

Universidad Nacional

Trabajo Final de Graduación presentado en la Escuela de Ciencias Ambientales Facultad de  
Ciencias de la Tierra y el Mar

Propuesta de biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas en una finca hortícola en  
Zarcero, provincia de Alajuela, periodo 2021-2022

Para obtener grado de Licenciatura en Ingeniería en Gestión Ambiental

Johnny Gabriel Brenes Bravo

Febrero, 2024

Trabajo de graduación aprobado por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional de Costa Rica, para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Gestión Ambiental

### **MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR**

---

Ph.D. María de Jesús Arias Andrés

Representante de la decanatura de la Facultad de Ciencias de la Tierra y el Mar

---

MGCI. Nancy Zamora Cervantes  
Representante de dirección EDECA

---

PhD. Martha Orozco Aceves  
Tutora

---

M.Sc. Lorena Uribe Lorio  
Lectora

---

PhD. Fernando Ramírez Muñoz  
Lector

---

Johnny Gabriel Brenes Bravo

Postulante



## Resumen

La región hortícola de Zarcero en Costa Rica enfrenta problemas de contaminación de suelos por plaguicidas debido a la práctica continua de la producción convencional. Para este trabajo se identificó una finca donde los cultivos mostraron crecimiento deficiente en zonas en forma de parches que permanecían constantes en el tiempo, lo cual hizo sospechar de fitotoxicidad por plaguicidas. Esta observación planteó la posibilidad de probar estrategias de biorremediación de suelos que combinaran la acción de una planta (leguminosa = vainica) y uno de dos productos biológicos comerciales que contenían microorganismos autótrofos (cianobacterias y microalgas) o heterótrofos (bacterias y hongos saprófitos). Con base en lo anterior, el objetivo de esta tesis fue evaluar la eficacia de tres diferentes métodos de biorremediación *in situ* para mejorar la calidad del suelo de una finca hortícola convencional. Para esto, se estableció un ensayo de bloques completos al azar con cuatro tratamientos: a. control (sin aplicación de productos biológicos ni siembra de vainica), b. cultivo de vainica únicamente, c. vainica + producto a base microorganismos heterótrofos y d. vainica + producto a base de microorganismos autótrofos. Además, se establecieron tres repeticiones (subparcelas) por tratamiento. Antes de la aplicación de los tratamientos se realizó una caracterización química y biológica del suelo de la parcela experimental. Los resultados revelaron una fertilidad adecuada del suelo, pH ácido, presencia de 16 ingredientes activos de plaguicidas, baja biomasa microbiana y baja población de nematodos fitoparásitos y de vida libre. Al término de un ciclo productivo de la vainica (12 semanas) se evaluaron los tratamientos de biorremediación, por medio de un análisis permutacional de varianza (Permanova), comparando las concentraciones de plaguicidas presentes en las subparcelas aplicadas con los tratamientos con aquellas de las subparcelas control. Se observó un mejor desempeño en la reducción de plaguicidas como boscalid, metalaxil tebuconazol y

terbufos sulfone en el tratamiento compuesto por vainica + bacterias y hongos saprófitos, sin embargo, esta respuesta de reducción en las concentraciones no mostró diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo. Otros plaguicidas como cipermetrina y carbofurán no presentaron diferencia en concentraciones con respecto al testigo. Por último, existió un grupo de plaguicidas cuya concentración se incrementó en suelo aplicado con los tratamientos (en comparación con el control), estos fueron buprofezin, clorpirifos, linuron y flutolanil. Asimismo, se observó variabilidad en la respuesta de plaguicidas a los diversos tratamientos, lo que indica procesos de degradación complejos, en los que pueden intervenir las características de los plaguicidas, del suelo y del ambiente. Para confirmar el desempeño del producto a base de bacterias y hongos saprófitos, se recomienda implementar el tratamiento vainica + microorganismos heterótrofos por al menos dos ciclos continuos de producción de vainica. Finalmente, se presenta un conjunto de prácticas de manejo de suelos (por ejemplo, rotación de cultivos y labranza de conservación) para facilitar la biorremediación efectiva de suelos contaminados por plaguicidas

**Palabras clave:** bioaumentación, fitorremediación, leguminosa, microorganismos autótrofos, microorganismos heterótrofos y horticultura.

## Abstract

The horticultural region of Zarcero in Costa Rica faces soil contamination issues due to pesticide use resulting from continuous conventional production practices. A farm was identified where crops exhibited patchy and consistent poor growth over time, raising suspicions of pesticide-induced phytotoxicity. This observation led to the consideration of soil bioremediation strategies involving the synergy between a leguminous plant (bean) and one of two commercial bioproducts containing autotrophic microorganisms (cyanobacteria and microalgae) or heterotrophic microorganisms (bacteria and saprophytic fungi). Based on this, the objective of this thesis was to assess the efficacy of three different in situ bioremediation methods for improving soil quality in a conventional horticultural farm. A randomized complete block design was established with four treatments: a. control (no application of bioproducts or bean planting), b. bean cultivation only, c. bean + product containing heterotrophic microorganisms, and d. bean + product containing autotrophic microorganisms. Three replications (subplots) were set up for each treatment. Prior to treatment application, a chemical and biological characterization of the experimental plot soil was conducted. Results revealed adequate soil fertility, acidic pH, presence of 16 active pesticide ingredients, low microbial biomass, and a reduced population of both phytoparasitic and free-living nematodes. At the end of a bean growth cycle (12 weeks), the bioremediation treatments were evaluated using a permutational analysis of variance (Permanova), comparing pesticide concentrations in the treated subplots with those in the control subplots. The bean + heterotrophic microorganisms treatment exhibited better performance in reducing pesticides like boscalid, metalaxyl, tebuconazole, and terbufos sulfone. However, this response could only be described as a tendency due to statistical analysis not showing significant differences between treatments. Other pesticides like cypermethrin and carbofuran showed no

concentration differences compared to the control. Notably, a group of pesticides displayed increased concentrations in soil treated with the bioremediation methods compared to the control. These pesticides included buprofezin, chlorpyrifos, linuron, and flutolanil. Variability in pesticide response among treatments was observed, indicating complex degradation processes influenced by pesticide characteristics, soil properties, and the environment. To validate the observed trends, implementing the bean + bacteria and saprophytic fungi treatment for at least two consecutive cowpea production cycles is recommended. Finally, a set of soil management practices (e.g., crop rotation, conservation tillage) is presented to facilitate effective bioremediation of pesticide-contaminated soils.

**Keywords:** bioaugmentation, phytoremediation, legume, autotrophic microorganisms, heterotrophic microorganisms, horticulture.

## Dedicatoria

A mis amados padres, Johnny Francisco Brenes Meza y María del Rocío Bravo Barahona. Sin su apoyo incondicional, dedicación y amor, este logro nunca hubiera sido posible. Gracias por ser mi fuente de inspiración y por alentarme a superar cada obstáculo en el camino hacia este momento. Su constante aliento me ha impulsado a alcanzar mis metas académicas y personales. Siempre estaré agradecido por su sacrificio y por ser mis pilares en todo instante.

A mi familia, agradezco a todos ustedes por su cariño y comprensión durante esta etapa de mi vida. Cada uno de ustedes ha contribuido con su granito de arena para que hoy pueda celebrar este logro. Su apoyo inquebrantable me ha dado la fuerza para seguir adelante incluso cuando las cosas se tornaban difíciles. Gracias por ser una parte fundamental de mi vida.

A mis queridos amigos, han sido mi fuente de alegría, distracción y compañía a lo largo de estos años. Gracias por estar a mi lado, por compartir risas, momentos inolvidables y por entenderme en cada situación. Su amistad ha sido una bendición que atesoro profundamente. Juntos hemos crecido, aprendido y construido memorias imborrables. ¡Gracias por todo!

Esta tesis está dedicada a cada uno de ustedes, mi familia y amigos, por ser mi red de apoyo y por ser una parte esencial de mi vida. Cada paso que doy en este camino lo hago sabiendo que tengo un equipo maravilloso que me impulsa a alcanzar mis sueños. Gracias por creer en mí y por ser una inspiración constante.

Con amor y gratitud.

## Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que hicieron posible la culminación de este trabajo. Su apoyo, guía y aliento fueron fundamentales para alcanzar este logro.

En primer lugar, quiero agradecer a mi tutora, Martha Orozco Aceves, por su dedicación y paciencia a lo largo de todo el proceso. Sus conocimientos y experiencia fueron un pilar para el desarrollo de este trabajo. Gracias por su orientación, por brindarme la libertad para explorar mis ideas y por ayudarme a superar los desafíos que se presentaron en el camino.

Además, quiero expresar mi agradecimiento a mis lectores, Fernando Ramírez Muñoz y Lorena Uribe Lorio, por su tiempo, interés y valiosas sugerencias. Sus comentarios constructivos contribuyeron significativamente a mejorar la calidad de este trabajo. Estoy agradecido por su disposición para revisar detenidamente cada detalle y por compartir su perspectiva experta.

Agradezco también a todos mis amigos y compañeros del Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas, su apoyo y compañía durante esta etapa académica fueron invaluable. Gracias por ser una fuente constante de motivación, por compartir ideas y conocimientos y por hacer de este proceso una experiencia enriquecedora.

Quiero reconocer a cada persona que, directa o indirectamente, contribuyó con la realización de este trabajo. Sus palabras de aliento, buenos consejos y ánimos me impulsaron para seguir adelante en los momentos más desafiantes.

Finalmente, mi más sincero agradecimiento a mi familia por su amor incondicional y comprensión. Su apoyo constante y creencia en mí fueron el motor que me impulsó a nunca rendirme y a perseguir mis metas con determinación.

Este trabajo no habría sido posible sin la colaboración y el respaldo de todos ustedes. Agradezco sinceramente cada gesto de amabilidad y confianza depositada en mí. Su contribución ha dejado una huella indeleble en este proyecto y en mi crecimiento personal y académico.

## Índice

Capítulo I. Introducción .....	20
Objetivos .....	23
Objetivo general .....	23
Objetivos específicos.....	23
Capítulo II. Marco teórico.....	25
Generalidades del suelo.....	25
Características de los suelos andisoles .....	26
Factores edáficos adversos al crecimiento vegetal.....	27
Factores bióticos.....	27
Factores abióticos.....	28
Contaminación con plaguicidas.....	28
Agricultura costarricense convencional y el uso de plaguicidas.....	29
Biorremediación.....	30
Bioaumentación.....	31
Fitorremediación.....	32
Rizorremediación .....	32
Mecanismos de degradación de contaminantes utilizados por microorganismos.....	32
Mineralización.....	33
Co metabolismo.....	33
Marco regulatorio.....	33
Buenas prácticas en el manejo de suelos agrícolas .....	34
Capítulo III. Marco metodológico .....	36

	12
Enfoque .....	36
Alcance y tipo de investigación .....	36
Sitio de estudio.....	36
Ubicación.....	36
Antecedentes.....	37
Topografía del sitio.....	38
Clima .....	39
Precipitación .....	40
Temperatura.....	41
Caracterización de suelo de la parcela experimental .....	42
Toma de muestras de suelo para caracterización .....	43
Productos comerciales para biorremediación de suelos.....	46
Identificación de microorganismos presentes en productos de biorremediación.....	46
Especie vegetal que se utiliza.....	47
Evaluación de los tratamientos de biorremediación.....	47
Diseño experimental.....	47
Establecimiento del ensayo .....	48
Siembra de vainica .....	48
Aplicación de productos para biorremediación.....	49
Análisis de resultados.....	50
Caracterización del suelo de la parcela experimental.....	50
Evaluación de los tratamientos de biorremediación.....	51
Propuesta de biorremediación y material de comunicación al productor .....	51

Capítulo IV. Resultados y discusión.....	53
Caracterización de suelo de la parcela experimental .....	53
Caracterización de la parcela experimental.....	56
Caracterización fisicoquímica .....	56
Textura del suelo .....	57
Acidez.....	57
Nutrientes .....	58
Relación carbono/nitrógeno.....	58
Análisis integral de características químicas.....	59
Caracterización biológica.....	60
Biomasa microbiana .....	60
Nematodos.....	62
Análisis integral de características biológicas.....	63
Plaguicidas .....	64
Análisis integral de residuos de plaguicidas .....	68
Control de calidad de productos comerciales para biorremediación de suelos.....	70
Evaluación de tratamientos de biorremediación .....	71
Plaguicidas cuya concentración disminuyó en los tratamientos de biorremediación.....	72
Plaguicidas cuya concentración no presentó cambios.....	77
Plaguicidas cuya concentración aumentó en los tratamientos de biorremediación.....	80
Presencia de metabolitos en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación .	82
Propuesta de biorremediación de suelos .....	85
Labranza del suelo.....	86

	14
Rotación de cultivos .....	87
Barreras o cercas vivas .....	89
Divulgación de resultados .....	90
Capítulo V. Conclusiones y recomendaciones.....	92
Conclusiones .....	92
Recomendaciones.....	94
Referencias bibliográficas.....	96
Anexos .....	120

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1</b> Síntesis de marco regulatorio existente en Costa Rica para normar la protección de los suelos.....	34
<b>Cuadro 2</b> Productos agrícolas aplicados a la parcela experimental en el periodo 2019-2021.....	53
<b>Cuadro 3</b> Análisis químico completo-valores promedio por bloque.....	56
<b>Cuadro 4</b> Biomasa microbiana en el suelo-valores promedio por bloque.....	61
<b>Cuadro 5</b> Conteo de nematodos-valores promedio por bloque .....	63
<b>Cuadro 6</b> Plaguicidas detectados en la parcela experimental y algunas de sus características generales .....	65
<b>Cuadro 7</b> Características químicas de los plaguicidas detectados en la parcela experimental....	66
<b>Cuadro 8</b> Concentraciones de plaguicidas presentes en la parcela experimental – Resultados promedio por bloque .....	67

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> Área de estudio .....	38
<b>Figura 2</b> Pendiente del terreno donde se localiza la parcela experimental .....	39
<b>Figura 3</b> Registro mensual acumulado de precipitación para la estación mecánica 6955 San Vicente de Zarcero, para un registro del periodo 1973-2016 .....	40
<b>Figura 4</b> Registro mensual acumulado de días de precipitación para la estación mecánica 69556 San Vicente de Zarcero, para un registro del periodo 1973-2016 .....	41
<b>Figura 5</b> Registro de temperatura media mensual para la estación mecánica 69556 San Vicente de Zarcero, para un periodo comprendido entre 1974-2007 .....	42
<b>Figura 6</b> Área experimental .....	43
<b>Figura 7</b> Diseño de muestreo en campo .....	44
<b>Figura 8</b> Método de cuarteo de la muestra .....	45
<b>Figura 9</b> Parámetros de siembra de vainica para ensayo de biorremediación de suelos .....	49
<b>Figura 10</b> Subdesarrollo en cultivo de maíz - finca José López .....	55
<b>Figura 11</b> Subdesarrollo en cultivo de culantro - finca José López .....	55
<b>Figura 12</b> Análisis de coordenadas principales de las características químicas de tres bloques de la parcela experimental .....	60
<b>Figura 13</b> Análisis de coordenadas principales de las características biológicas de los bloques de la parcela experimental .....	64

<b>Figura 14</b> Análisis de coordenadas principales de los plaguicidas cuantificados en los tres bloques de la parcela experimental .....	69
<b>Figura 15</b> Microalgas .....	70
<b>Figura 16</b> Cistos de cianobacterias .....	70
<b>Figura 17</b> Análisis de coordenadas principales de la presencia de residuos de plaguicidas presentes posteriormente a la aplicación de tratamientos de biorremediación de suelos. T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos .....	72
<b>Figura 18</b> Plaguicidas cuya concentración decreció en suelos aplicados con tratamientos de biorremediación comparados con subparcelas testigo (ng/g de suelo). T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.....	73
<b>Figura 19</b> Plaguicidas cuya concentración fue similar en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación en comparación con subparcelas testigo (ng/g de suelo). T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.....	78
<b>Figura 20</b> Plaguicidas cuya concentración aumentó en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación en comparación con subparcelas testigo (ng/g suelo). T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.....	80
<b>Figura 21</b> Metabolitos presentes en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación	

(ng/g de suelo) T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos .....	83
<b>Figura 22</b> Sistema de labranza de conservación - labranza cero .....	87
<b>Figura 23</b> Sistema de rotación de cultivo y cultivo mixto .....	88
<b>Figura 24</b> Barreras vivas en sistema agrícola .....	89
<b>Figura 25</b> Divulgación de resultados a José López.....	90
<b>Figura 26</b> Divulgación de resultados a productores Zarcereños .....	91

## Índice de anexos

Anexo 1. Herramienta de toma de información de muestreo .....	120
Anexo 2. Matriz de sistematización de información .....	121
Anexo 3. Método de extracción de plaguicidas en matriz de suelo .....	122
Anexo 4. Método de extracción de nematodos .....	123
Anexo 5. Datos de estación meteorológica mecánica 69556 San Vicente .....	124
Anexo 6. Resultados de análisis químico .....	124
Anexo 7. Resultados de biomasa microbiana .....	126
Anexo 8. Resultados de análisis nematológico.....	127
Anexo 9. Cronograma de actividades .....	128
Anexo 10. Presupuesto del proyecto.....	129
Anexo 11. Resultados de presencia de plaguicidas-muestreo final .....	130

## Capítulo I. Introducción

Costa Rica posee una economía basada principalmente en el turismo, la venta de servicios y la generación de productos agrícolas de exportación y consumo interno. Para el 2017 un aproximado de 450 100 ha del territorio nacional fueron destinadas a la producción agrícola (Mora y Quirós, 2018), lo que se traduce en un 8,8 % del área total del país. La agricultura ha sido fundamental para el desarrollo costarricense, no obstante, el destino de esta actividad ha sido dictado por el enfoque convencional que se basa en uso intensivo de fertilizantes y plaguicidas sintéticos.

Por ejemplo, algunas estadísticas del Banco Central de Costa Rica indicaban que, para la década de los 90 el país importaba cerca de nueve millones de kg de plaguicidas formulados y se estimó que en promedio se aplicaban 6 kg de ingrediente activo/ha/año (García, 1990). Lo anterior demuestra que no todo el producto importado se utilizaba en el país, sin embargo, estos valores refieren un consumo elevado de plaguicidas para su época.

Entre el 2012 y 2020 se registró un uso aparente de 34,45 kg de ingrediente activo/ha/año (Vargas, 2022). Este valor demuestra un significativo incremento en el uso de plaguicidas en Costa Rica, por lo que al considerar este efecto de crecimiento, se estima que en el ámbito mundial el país es el mayor consumidor de agroquímicos (Vargas, 2022).

Por sus diversas condiciones climáticas en un espacio tan reducido, la dinámica agrícola en Costa Rica es sumamente variada en relación con los procesos de producción, tipos de productos y, como consecuencia, con la aplicación de químicos de uso agrícola. Sin embargo, las cantidades usadas de plaguicidas en el país representan un problema serio de contaminación ambiental, por ejemplo, del suelo.

La presión del sector agrícola sobre el recurso del suelo trasciende las fronteras nacionales y es un impacto que se materializa en todo el mundo. Debido a esto, organizaciones internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), buscan establecer diligentemente un balance entre la producción agrícola y la conservación de la riqueza de los suelos. En el año 2011 se perdió un aproximado de 24 000 000 t de suelo fértil y, si se mantiene el ritmo actual de presión sobre este recurso, se prevé que, para el 2050, la superficie de suelo fértil se verá reducida a la mitad (FAO, 2015). El suelo agrícola se encuentra en riesgo, por lo que es fundamental tomar medidas para protegerlo y recuperarlo, ya que es un recurso irrecuperable y de gran valor para la producción de alimentos para la humanidad, cuya importancia ha sido históricamente ignorada (FAO, 2015).

En la actualidad, para atender casos de contaminación de suelos por plaguicidas y otras sustancias químicas es usual aplicar metodologías biológicas para remediar este recurso. La denominada biorremediación consiste en el uso de microorganismos como agentes de remoción y descomposición de contaminantes y toxinas (Megharaj, 2014). Según Di Paola y Vicién (2010), la creciente contaminación industrial y agrícola aumentó la demanda de procesos que eliminen contaminantes específicos.

Algunos países europeos como Dinamarca, Alemania y Países Bajos han tenido tanto éxito en la recuperación de suelos mediante técnicas biológicas de biorremediación, que la demanda externa por bienes y servicios ambientales ha derivado en una industria que se enfoca en la exportación de estos. Por otra parte, en Latinoamérica países como México o Argentina (Ferrera *et al.*, 2006) y Costa Rica (Chin-Pampillo *et al.*, 2015) han desarrollado estudios sobre la aplicación exitosa de planes de biorremediación para atender los impactos que generan diversos contaminantes como hidrocarburos, metales pesados y plaguicidas. Además, en el país

existe un aparato reglamentario que busca evaluar, fiscalizar y organizar la institución pública con el fin de proteger, conservar y mejorar los suelos, así como evitar la erosión y degradación por diversas causas naturales y artificiales (Reglamento a la Ley de uso, Manejo y Conservación de Suelos, 1998).

Los problemas de degradación de suelo se encuentran en zonas de relevancia agrícola como Zarcero en Alajuela (Berrocal *et al.*, 2021). Un estudio realizado por el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET) entre 2014 y 2016 evidenció la presencia de clorotalonil, clorpirifos, flutolanil, alfa-cipermetrina, terbufos, pentacloroanilina, deltametrina y permetrina en suelos de Zarcero (Ramírez *et al.*, 2017). Lo anterior contribuye a poner en riesgo la salud ecosistémica y la actividad agrícola debido a la degradación de la capa arable.

En Zarcero se reportan problemáticas de residualidad y persistencia de plaguicidas en suelo (Ramírez *et al.*, 2017), en visitas de campo se ha observado un pobre desarrollo de los cultivos y merma en los rendimientos, con implicaciones negativas en las economías de las familias agricultoras. Por este motivo, el desarrollo, validación e implementación de estrategias de biorremediación son críticas para conservar el potencial agrícola de los suelos.

Específicamente, para el presente estudio se identifica una finca hortícola cuyo suelo presenta aparentes problemas de contaminación por plaguicidas, heterogeneidad de crecimiento vegetal incluso en plantas aledañas, síntomas de insuficiencias o mala absorción de minerales o posible fitotoxicidad.

Debido a lo anterior, se propone realizar procesos de biorremediación de suelos *in situ*, mediante la aplicación de productos comerciales y cultivo de una especie de leguminosa para verificar su eficacia de remediación y brindar al productor agrícola zarcereño una posibilidad económica y, ambientalmente, viable de intervenir suelos agrícolas contaminados. La

información obtenida de este proyecto representa un acervo de conocimiento de utilidad para los productores, la academia, para futuros investigadores y para la comunidad costarricense en general. Asimismo, este trabajo es un apoyo al cumplimiento de los tópicos de conservación de suelos estipulados en la Ley n.º 7779 para el Uso, Manejo y Conservación de Suelos.

## **Objetivos**

### ***Objetivo general***

Determinar la eficacia de una estrategia de biorremediación de suelos agrícolas en una finca hortícola del cantón de Zarcero para la definición del producto con mejores resultados en la reducción de la contaminación y mejora de la calidad de los suelos.

### ***Objetivos específicos***

1. Caracterizar las condiciones físicas, químicas y biológicas del área de estudio mediante la información bibliográfica, datos y trabajo de campo, para que se defina la línea base de conocimientos que sirva para la interpretación de los resultados del desarrollo experimental.
2. Evaluar la eficacia de eliminación de plaguicidas en suelos agrícolas en el área de estudio, mediante la ejecución de tres procesos experimentales de biorremediación que utilicen microorganismos heterótrofos en combinación con una especie vegetal, únicamente la especie vegetal y microorganismos autótrofos.
3. Elaborar la propuesta de biorremediación y divulgación de los resultados y hallazgos de la investigación a las personas agricultoras de Zarcero mediante un taller educativo y un

documento con buenas prácticas agrícolas para la recuperación y mantenimiento de la calidad de los suelos.

## Capítulo II. Marco teórico

Para efectos del desarrollo de este trabajo, el presente marco teórico ofrece información sobre los conceptos y teorías más importantes que se relacionan con el objeto de estudio. Este apartado se agrupa en cinco grandes temáticas que desarrollan ampliamente los aspectos de mayor relevancia para el proyecto investigativo.

### Generalidades del suelo

El suelo es un recurso natural que se refiere específicamente a la capa superficial de la tierra y es el principal medio en el que crecen las plantas y todo ser vivo desarrolla sus actividades. Además, es capaz de aportar los nutrientes fundamentales para el crecimiento de los vegetales y almacenar agua de lluvias cediéndola a las plantas a medida que lo necesiten (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Tacuarembó, 2015). Se puede definir como una capa de la superficie planetaria que contiene líquido, gases y biota, que se ve afectada por procesos químicos, físicos y biológicos, y generalmente se encuentra compuesta por minerales sueltos y material orgánico (Van Es, 2018). Por otra parte, Burbano (2016) define el suelo como:

Un recurso natural finito y no renovable que presta diversos servicios ecosistémicos o ambientales, entre ellos y a manera de ejemplo, el relacionado con su participación en los ciclos biogeoquímicos de elementos claves para la vida como carbono, nitrógeno y fósforo, que continuamente y por efecto de la energía disponible, pasan de los sistemas vivos a los componentes no vivos del planeta (s. p.).

Para la FAO (2015), la función más universalmente reconocida del suelo es su apoyo a la producción alimentaria. Esta es la base para la agricultura y el medio en el que crecen casi todas las plantas de las que se obtienen alimentos, ya que se estima que el 95 % de los alimentos se

produce directa o indirectamente en los suelos. Los suelos sanos suministran los nutrientes esenciales, agua, oxígeno y el soporte para las raíces que los cultivos alimentarios necesitan para crecer y prosperar. Una manera integral y tácita de definir el concepto de suelo es referirse a este como un elemento esencial del ambiente en el que se desarrolla la vida; es vulnerable, de difícil y larga recuperación y de extensión limitada, por lo que se considera un recurso natural no renovable (Arroyave y Correa, 2009).

### ***Características de los suelos andisoles***

Los suelos en la zona de Zarcero son de tipo andisol (MAG, 2020), los cuales se desarrollan a partir de materiales volcánicos, cenizas y lavas, por lo tanto, se pueden encontrar en zonas de influencia de los volcanes. Estos suelos poseen alto contenido orgánico (Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, 2015). Los andisoles tienen propiedades fisicoquímicas óptimas para la producción agrícola, con densidades aparentes muy bajas y poca resistencia a los cortes tangenciales, simulan ser suelos sueltos que permiten ser arados de manera sencilla, lo que facilita la labor del agro (Henríquez *et al.*, 2011).

Los suelos andisoles son muy bien estructurados y debido a su poca densidad aparente permiten un drenaje rápido, pero con buena retención de humedad. Las texturas pertenecientes a este tipo de suelos varían según su ubicación o cercanía al cono volcánico, por lo que las partes cercanas al volcán presentan texturas franco-arenosas, en las zonas intermedias se encuentran texturas más franco-limosas o francas, mientras que en las partes inferiores se pueden encontrar texturas arcillosas (Henríquez *et al.*, 2011).

## **Factores edáficos adversos al crecimiento vegetal**

Las plantas pueden sufrir el efecto de diversos factores que afectan su bienestar. Cuando las plantas no pueden expresar un rendimiento apropiado se denomina estado de estrés y este puede estar condicionado tanto por elementos bióticos como abióticos.

### **Factores bióticos**

Según Gonzales (1981): «La Fitopatología (Phyton = planta, pathos = dolencia, logos = estudio) es la ciencia que estudia las enfermedades de las plantas y su combate» (s. p.). Por lo tanto, los patógenos edáficos son aquellos elementos bióticos presentes en el suelo que pueden generar dolencias o afecciones a las plantas. Entre los patógenos de mayor relevancia se distinguen los hongos cuya actividad patógena en suelos causa más del 70 % de enfermedades en plantas (Granados, 2018). Además de organismos procariontes en el caso de las bacterias y eucariotas en el caso de los oomicetos, de los cuales se posee amplios registros de efectos negativos como pudrición de raíces, necrosis de tallo y debilitamiento total de las plantas (Zoghbi y Hernández, 2019).

Por otra parte, también se reconocen los nematodos fitoparásitos, los cuales son invertebrados de pequeño tamaño que dependen del agua y poseen la capacidad de colonizar y alimentarse del tejido de plantas y animales. La fisiología de su aparato bucal incluye un estilete tipo aguja que puede causar pérdidas significativas en varios cultivos (Fátima *et al.*, 2012).

## **Factores abióticos**

### ***Contaminación con plaguicidas***

El uso de plaguicidas en la actividad agrícola no tiene efectos únicamente sobre aquellos organismos que se consideran plagas y enfermedades para el cultivo, sino que también afecta los ecosistemas y seres vivos (García *et al.*, 2018). Según Navarro y Barba (1996), la acumulación de plaguicidas en los suelos de cultivo se promueve por diferentes mecanismos, el más convencional y utilizado es por aspersión aérea para el control de microorganismos y plagas en general.

Este proceso de aspersión asegura una concentración del 50 % del producto en el suelo. Sin embargo, otros plaguicidas como los herbicidas, por su objetivo meta, deben aplicarse propiamente en el suelo antes del nacimiento de las plántulas. Por lo tanto, se incorporan de manera directa a los ecosistemas, lo que inicia de manera efectiva el procedimiento de degradación. En este proceso se identifican tres etapas: i. persistencia, lenta degradación de los plaguicidas en el suelo; ii. latencia, de corta duración y con una concentración sostenida del plaguicida y iii. disipación, de rápida degradación en el suelo (Castillo *et al.*, 2020).

El uso desmedido de plaguicidas posee consecuencias en el ambiente que se relacionan con la reducción de la biodiversidad, erosión y pérdida de permeabilidad de los suelos, aumento de la vulnerabilidad de las plagas y enfermedades (García, 1997). Además, conduce al desequilibrio y agotamiento de los agrosistemas, por ejemplo, en la zona de Guápiles se demostró que los suelos que se utilizan para el cultivo de banano se encuentran más contaminados por plaguicidas que los que están alejados de las plantaciones y se detectaron no

solo remanentes residuales de plaguicidas en el suelo, sino también en peces y plantas (Espinoza *et al.*, 2003).

### **Agricultura costarricense convencional y el uso de plaguicidas**

Samper (2005) hace una evaluación del desarrollo histórico de la actividad agrícola en la Zona Norte del país bajo una serie de aseveraciones que denotan cómo la producción del agro costarricense ha deteriorado significativamente los agroecosistemas locales. Lo anterior Samper (2005) lo atribuye a la eliminación de la cobertura boscosa y la intensificación de la agricultura, el aumento de malezas, plagas y enfermedades, además de la poca disponibilidad de nutrientes y una baja en las cosechas. En la década de los 80 se incrementaron los rendimientos en la productividad con la aplicación de agroquímicos, sin embargo, también aumentaron considerablemente los costos y la vulnerabilidad de los ecosistemas, lo que significa un innegable sacrificio de la sostenibilidad (OPS, 2003).

La actividad agrícola costarricense ha dependido significativamente de la aplicación de plaguicidas. Una razón de relevancia para justificar este comportamiento se atribuye al hecho de que estos sistemas de producción se encuentran en condiciones de clima tropical, por lo tanto, la tierra se mantiene produciendo durante casi todo el año. Según García (1993), los cultivos permanentes como cacao, café y palma aceitera reciben aplicaciones de plaguicidas con menos frecuencia, de 1 a 5 aplicaciones por año, en comparación con los cultivos de ciclo corto como tabaco, papa y diversas hortalizas, a los cuales se los aplican hasta 39 veces por ciclo de cultivo.

Por otro lado, se conoce que los cultivos orgánicos, producción de frutas frescas y cultivos industriales poseen el menor impacto ambiental, lo cual se debe al cumplimiento de normas internacionales para la exportación. En contraparte, el mayor impacto negativo lo causa

la producción de granos básicos, yuca, plátanos, hortalizas y plantas ornamentales. Esto representa un efecto de la necesidad de los pequeños y medianos productores agrícolas por la generación de ingresos o alimentos (GFA Consulting Group S. A., 2010).

Por otra parte, García (1993) sustenta que la agricultura orgánica en Costa Rica posee un complejo organizacional que apoya este modelo productivo bajo técnicas optativas. Lo anterior ha permitido sustituir o eliminar el uso de plaguicidas sintéticos, lo que ha encaminado al país hacia modelos de producción agrícola más amigables con el ambiente.

### **Biorremediación**

Una manera amplia de definir el concepto de biorremediación o tecnologías de biorremediación se indica en el Manual de Tecnologías de Remediación de Sitios Contaminados del Gobierno de Chile: «Utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para la degradación, transformación, remoción de compuestos orgánicos tóxicos, dependiendo de las actividades catabólicas de los organismos y de su capacidad natural para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía» (Gobierno de Chile, 2019).

Otros autores como López *et al.* (2016) agregan además que los microorganismos no solo degradan los contaminantes, sino que también utilizan otros procesos de transformación o mineralización de contaminantes. Estos procedimientos biorremediativos se pueden ejecutar de forma natural en largos periodos (atenuación natural), o bien se puede reducir el tiempo de remediación al aumentar la carga de biomasa microbiana. Estos enfoques de biorremediación se describen en el siguiente apartado.

### ***Bioaumentación***

La bioaumentación consiste en adicionar cepas de microorganismos al medio, es decir, aumento de la biomasa microbiana en la zona. Esta práctica se sustenta en el principio de que las cepas microbianas o microorganismos autóctonos pueden existir en bajas cantidades, encontrarse en estado de estrés, o bien pueden no ser capaces de procesar los contaminantes. Por lo tanto, un agregado microbiano externo acelera los procesos de recuperación del suelo (Godleads *et al.*, 2015).

Las opciones de uso más común para la bioaumentación corresponden a adicionar cepas bacterianas puras y compuestas preadaptadas, bacterias modificadas genéticamente y adicionar material genético necesario para la biodegradación que se transfiere por conjugación a los microorganismos autóctonos para que estos desarrollen la tarea de biorremediación (El Fantroussi y Agathos, 2005). En adición a lo anterior, Cycoń *et al.* (2017) realizaron una amplia revisión en la que demuestran como la aplicación de cepas bacterianas, previamente preparadas, en suelos contaminados redujeron notablemente la presencia de diferentes tipos de plaguicidas, agregan que el efecto de degradación está asociado al tipo de bacteria utilizada y o consorcio utilizado.

Finalmente, Tyagi *et al.* (2010) agregan que los procesos de biorremediación que sugieren bioaumentación o bioestimulación son técnicas muy ventajosas desde puntos de vista económicos y técnicos para recuperar de manera ecoamigable los suelos y cuerpos de agua contaminados.

### ***Fitorremediación***

La fitorremediación es el uso de plantas como método para recuperar suelos contaminados, mediante procesos de secuestro, desintoxicación y extracción de contaminantes. Esta práctica ha sido calificada y aceptada como una tecnología de remediación económica, no intrusiva, efectiva y amigable con el ambiente (Garbisu y Alkorta, 2001). Salazar y Pignata (2013) mencionan que esta técnica posee especiales ventajas sobre las técnicas tradicionales de remediación, principalmente cuando las plantas que se utilizan son no invasivas o nativas. Henderson *et al.* (2006) demostraron que los suelos contaminados con un herbicida llamado metalocloro podían ser remediados por fitorremediación, en su estudio, el principal mecanismo de remediación estaba mediado por la absorción de las plantas mediante el sistema radicular.

### ***Rizorremediación***

Este proceso se relaciona directamente con la fitorremediación y la biorremediación por microorganismos de la rizosfera, ya que la biomasa microbiana se ve beneficiada por los exudados radicales de las plantas. En este procedimiento el trabajo de degradación lo realizan los microorganismos, los cuales se ven asistidos por las plantas (Mukhopadhyay y Maiti, 2010). Por ejemplo, un estudio realizado por Romeh (2009) demostró que el cultivo de *Plantago major* promovió el crecimiento de bacterias gramnegativas que degradaron la presencia de Imidacloprid hasta en un 93%.

### **Mecanismos de degradación de contaminantes utilizados por microorganismos**

Los microorganismos utilizan diversos medios de degradación según sus capacidades, las características de los contaminantes y condiciones nutrimentales del medio (Peña, 2016). Los mecanismos más comunes se desarrollan a continuación.

### ***Mineralización***

Monsalve *et al.* (2017) la definen como la maquinaria enzimática mediante la cual los microorganismos obtienen la energía para desarrollar cualquier proceso metabólico mediante la descomposición bioquímica de macromoléculas orgánicas. Es decir, corresponde a la degradación de compuestos orgánicos a sus constituyentes minerales. Por otra parte, Huang *et al.* (2018) la describen como la conversión de compuestos orgánicos a inorgánicos mediante la acción enzimática microbiana, que utiliza los compuestos orgánicos como fuente de nutrientes y los degrada a material inorgánico como dióxido de carbono y agua.

### ***Co metabolismo***

El co metabolismo refiere a la transformación de un cosustrato en la presencia de un sustrato (García y Peralta, 2008). Es decir, la capacidad que posee un organismo de metabolizar una molécula orgánica (por ejemplo, un contaminante) a partir de la presencia de sustratos o fuentes de energía principales (compuesto de carbono).

### **Marco regulatorio**

En el país existen algunas pautas reglamentarias que incentivan la aplicación de buenas prácticas y metodologías como la biorremediación, para recuperar la calidad de los suelos, las cuales se describen en el Cuadro 1.

**Cuadro 1**

*Síntesis de marco regulatorio existente en Costa Rica para normar la protección de los suelos*

<b>Ley o reglamento</b>	<b>Artículos</b>	<b>Síntesis</b>
Ley n.º 7779 para el Uso, Manejo y Conservación de Suelos	Art. 2 (p. 1)	El objetivo de la ley es conservar y recuperar los suelos de forma sostenida mediante el fomento de la agroecología y la implementación de prácticas mejoradas.
	Art. 41 (p. 12)	Toda persona pública o privada está obligada a fomentar, contribuir y ejecutar actividades y prácticas para el manejo, conservación y recuperación de suelos.
Reglamento n.º 29375 MAG-Minae-S-HACIENDA-MOPT a la Ley de Uso, Manejo y Conservación de Suelos	Art. 49 (p. 21)	Las prácticas de recuperación, manejo y conservación de suelos se harán con base en limitaciones agroecológicas y socioeconómicas.
Ley n.º 7554 Orgánica del Ambiente	Art. 53 (p. 16)	Criterios para proteger y aprovechar el suelo sobre el desarrollo de prácticas de conservación y el control de actividades que favorezcan la erosión y la capacidad económica del recurso.

*Tomado de: Elaboración propia con datos del Sistema Nacional de Información Jurídica, 2022.*

**Buenas prácticas en el manejo de suelos agrícolas**

Las buenas prácticas agrícolas (BPA) corresponden a una serie de actividades que buscan la sostenibilidad ambiental, social y económica sobre la producción agrícola, las cuales se aplican sobre los procesos de producción o sobre las fincas como tal (Piedra *et al.*, 2017). La FAO (2002) establece que existen alternativas para el uso de plaguicidas, las cuales se dividen en medidas naturales y aplicadas, que van desde el uso de enemigos naturales y de las condiciones meteorológicas para el control de plagas hasta rotación de cultivos, selección apropiada de las variedades cultivables y modificaciones en las prácticas y fechas de cultivo.

Para Costa Rica, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) (2008) establece algunas recomendaciones para la conservación de los suelos agrícolas, con énfasis en prácticas conservacionistas que se enfoquen en la mínima labranza y el uso de cultivos asociados. Otras prácticas de ejecución tardía refieren especialmente al monitoreo del suelo, para lo que se indica: «Los terrenos con antecedentes de contaminación física, química o biológica y alta incidencia de plagas de vegetales en el ciclo previo, podrán ser utilizados hasta que el grado de contaminación desaparezca y se demuestre mediante análisis» (MAG, 2008, p. 21).

Otros métodos que pueden ser efectivos para disminuir la presión sobre el suelo agrícola refieren necesariamente al control biológico en los procesos de producción. Algunas herramientas como la aleopatía permiten la disminución de plaguicidas de origen sintético y mejoran el rendimiento de los cultivos por asociaciones entre especies. Estos procedimientos alelopáticos se pueden realizar con la aplicación en las zonas de cultivo de plantas repelentes, plantas trampa, plantas acompañantes o plantas antagónicas (FAO, 2018).

Ciertas prácticas que permitan reconocer las plagas y determinar sus potenciales depredadores facilitan establecer medidas de control biológico que ofrezcan la posibilidad de disminuir el uso de plaguicidas en las zonas de cultivo. El identificar estos depredadores ofrece la alternativa para estimular su reproducción al crear refugios y facilidades en las zonas de cultivo (Zaccagnini *et al.*, 2014). Los procesos de abordaje para la conservación de suelos deben ser integrales y programados.

### **Capítulo III. Marco metodológico**

#### **Enfoque**

Este proyecto posee un enfoque cuantitativo, en el proceso investigativo se considera el análisis de información bibliográfica para caracterizar la zona y datos climatológicos que se obtienen por instituciones estatales. Además, se realiza trabajo de campo para la toma de muestras, desarrollo experimental *in situ* y fiscalización del experimento. El cronograma y presupuesto del proyecto se pueden observar en los anexos 9 y 10 respectivamente.

#### **Alcance y tipo de investigación**

El alcance de la investigación es exploratorio y el tipo de proyecto es experimental. A partir de esto se pretende evaluar la eficacia de diferentes procesos de biorremediación de suelo *in situ*, con poca o nula intervención y sin las consideraciones de un ambiente o entorno controlado.

#### **Sitio de estudio**

##### ***Ubicación***

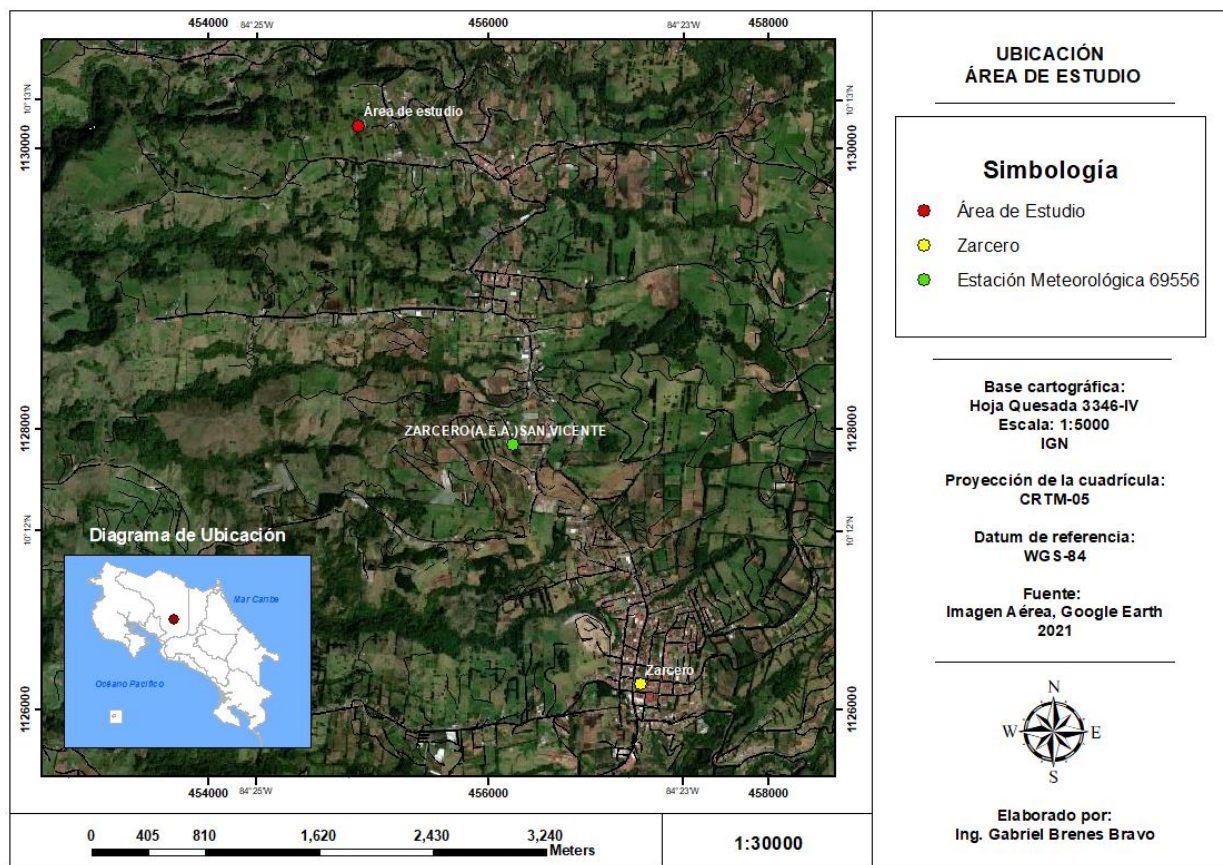
La zona de estudio se ubica en el cantón de Zarcero, distrito de Tapezco, el cual es un territorio rural cuyo desarrollo socioeconómico se basa principalmente en la actividad agrícola y representa un área importante de producción hortícola en Costa Rica (Muñoz, 2015). Además, el sitio de estudio es una finca de producción hortícola propiedad del productor José López, cuyas coordenadas centrales corresponden a 455060 E/1130151 N en proyección CRTM05 (ver la Figura 1).

### *Antecedentes*

La finca de producción agrícola objeto de este estudio posee un área aproximada de 4 ha, de las cuales 2 ha están dedicadas al cultivo, 1,5 ha son pastos y 0,5 ha corresponde a bosques y caminos. El área de cultivo se enfoca en la generación de productos hortícolas con un manejo convencional, entendiéndose como convencional el uso de plaguicidas, abonos químicos y prácticas de labranza erosivas; el sistema de riego utiliza el agua de una naciente cercana cuya calidad no se analizó.

Algunas de las siembras observadas durante las visitas de campo fueron zanahoria, maíz, tomate, chile dulce y coliflor. Otros cultivos desarrollados en ciclos anteriores al proceso experimental corresponden específicamente a papa y cebolla, según comentarios del productor los mismos no tuvieron un buen desarrollo en la parcela en estudio y esto se tradujo en pérdidas económicas.

**Figura 1**  
*Área de estudio*



Tomado de: *Elaboración propia*

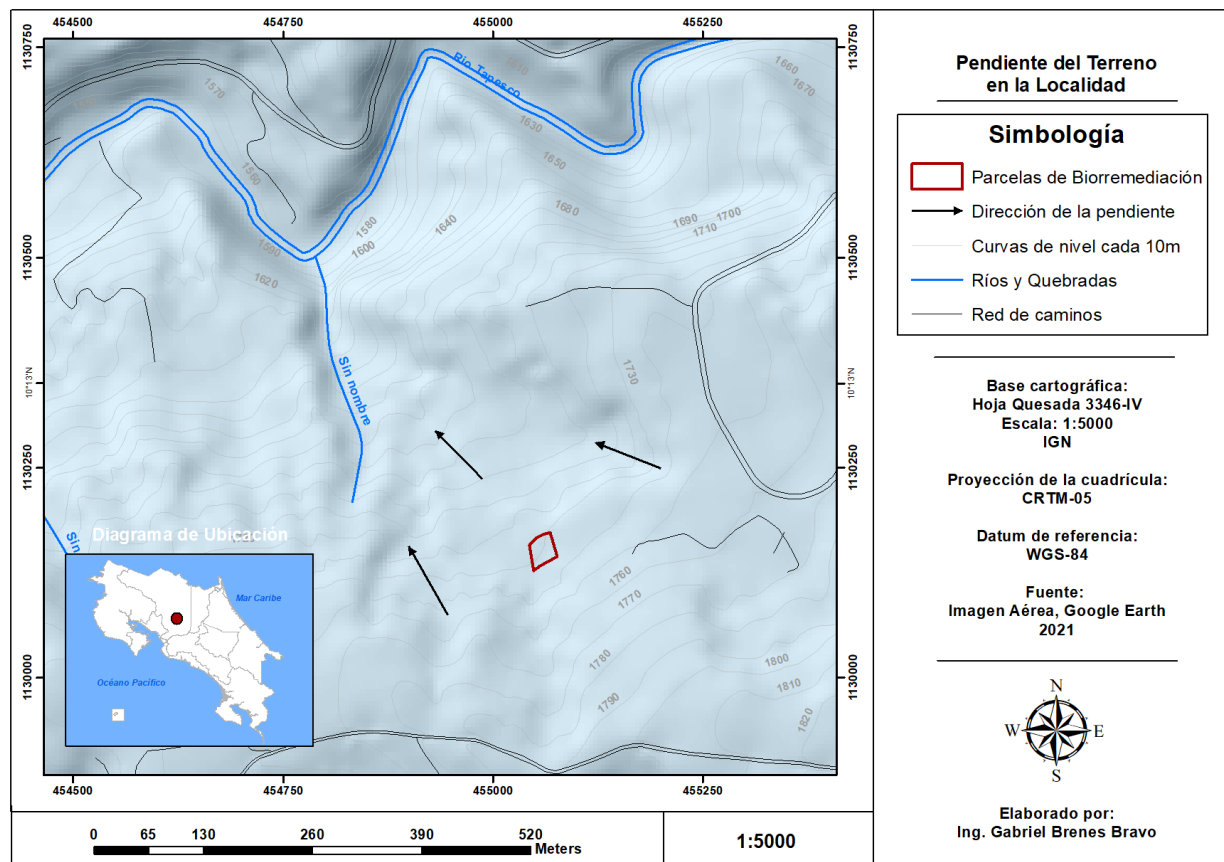
### **Topografía del sitio**

El modelo de elevación digital desarrollado muestra que la topografía de la finca es irregular y presenta una pendiente del 20 % y ángulo de  $11,3^\circ$  con caída hacia el noroeste. Esto demuestra que en la zona de estudio existe una topografía de pendiente media (Velásquez *et al.*, 2013). Esta pendiente regula la dirección de las aguas encausándolas hacia la cuenca del río Tapezco.

Con las visitas de campo se corrobora que el modelo de sombras y elevación digital es compatible con lo observado en el área de estudio. Es decir, *in situ* la finca presenta una pendiente en dirección noroeste (ver la Figura 2).

## Figura 2

*Pendiente del terreno donde se localiza la parcela experimental*



Tomado de: *Elaboración propia*

## Clima

Los promedios mensuales de datos climáticos entre el periodo 1973-2016 recuperados corresponden con la estación climatológica mecánica 69556 San Vicente, localizada en las coordenadas geográficas 84° 22 'O y 10° 17 'N a una distancia aproximada de 2524 m en

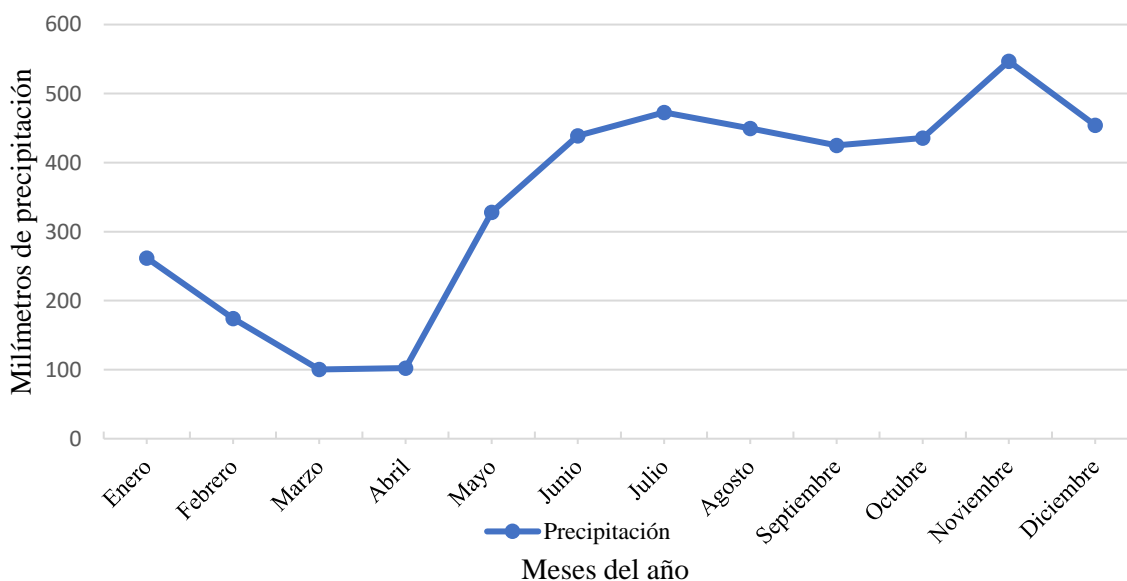
dirección sureste del área de estudio y una altitud de 1450 m. s. n. m. Esta estación corresponde a la más cercana al área de estudio.

### ***Precipitación***

Con base en el registro del periodo 1973-2016 de la estación mecánica San Vicente (ver Figura 3, Anexo 5), la precipitación promedio anual en la zona de estudio corresponde a 349,2 mm aproximadamente. Los meses entre julio y diciembre son los que tienen mayor precipitación durante el año, con valores superiores a 425 mm/mes. Esta temporada es de especial interés, puesto que es en este rango de tiempo en el cual se desarrolla el ensayo de campo.

### **Figura 3**

*Registro mensual acumulado de precipitación para la estación mecánica 6955 San Vicente de Zarcero, para un registro del periodo 1973-2016*

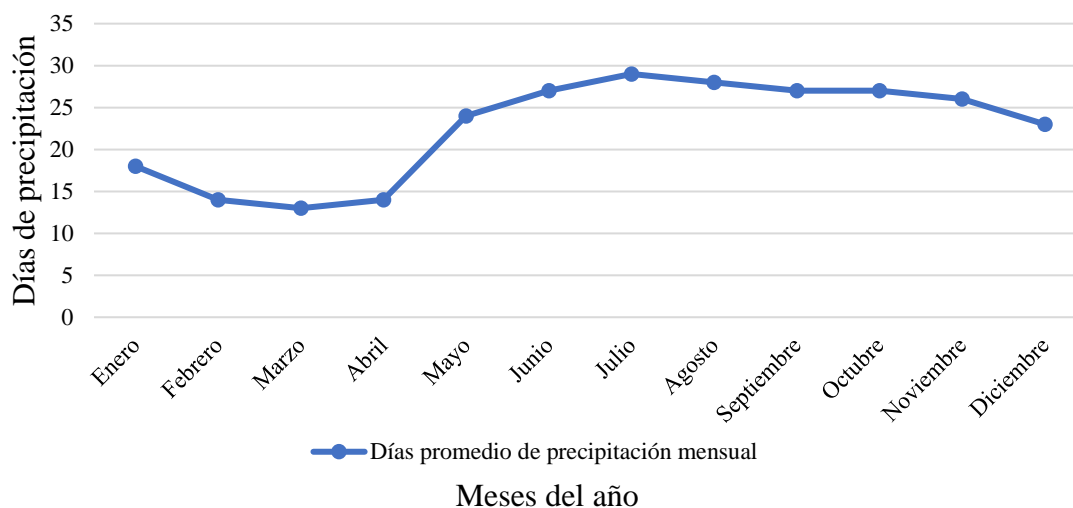


*Tomado de: Elaboración propia*

Es correlacionable un aumento en los días de lluvia a los meses con mayor precipitación promedio presentados. Es decir, los meses que poseen mayor índice de precipitación promedio, presentan también mayor cantidad de días de precipitación al mes. Esto indica que el promedio de precipitación mensual no solo refiere a un incremento en el volumen de precipitación, sino también en los días de precipitación (ver la Figura 4).

#### **Figura 4**

*Registro mensual acumulado de días de precipitación para la estación mecánica 69556 San Vicente de Zarcero, para un registro del periodo 1973-2016*



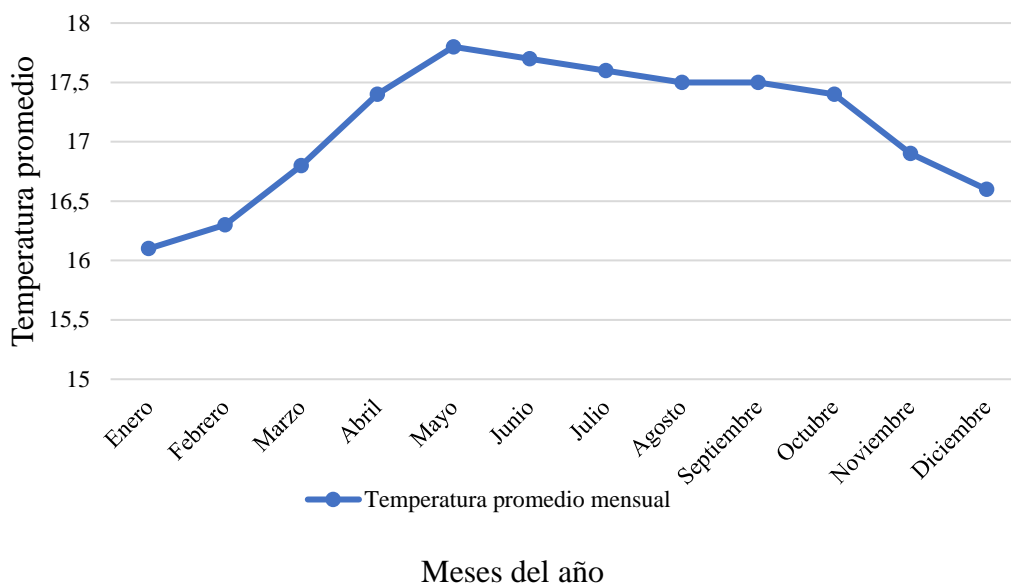
*Tomado de: Elaboración propia*

#### **Temperatura**

La temperatura media mensual presenta poca variación de un mes a otro, esta se mantiene en un promedio anual de 17,1 °C. Los meses entre noviembre y marzo se destacan como los más fríos, al registrar temperaturas mínimas de entre 16,1 °C y 16,9 °C y máximas entre los meses de abril y noviembre con valores de entre 17,4 °C y 17,8 °C (ver la Figura 5).

**Figura 5**

*Registro de temperatura media mensual para la estación mecánica 69556 San Vicente de Zarcero, para un periodo comprendido entre 1974-2007*



*Tomado de: Elaboración propia*

### **Caracterización de suelo de la parcela experimental**

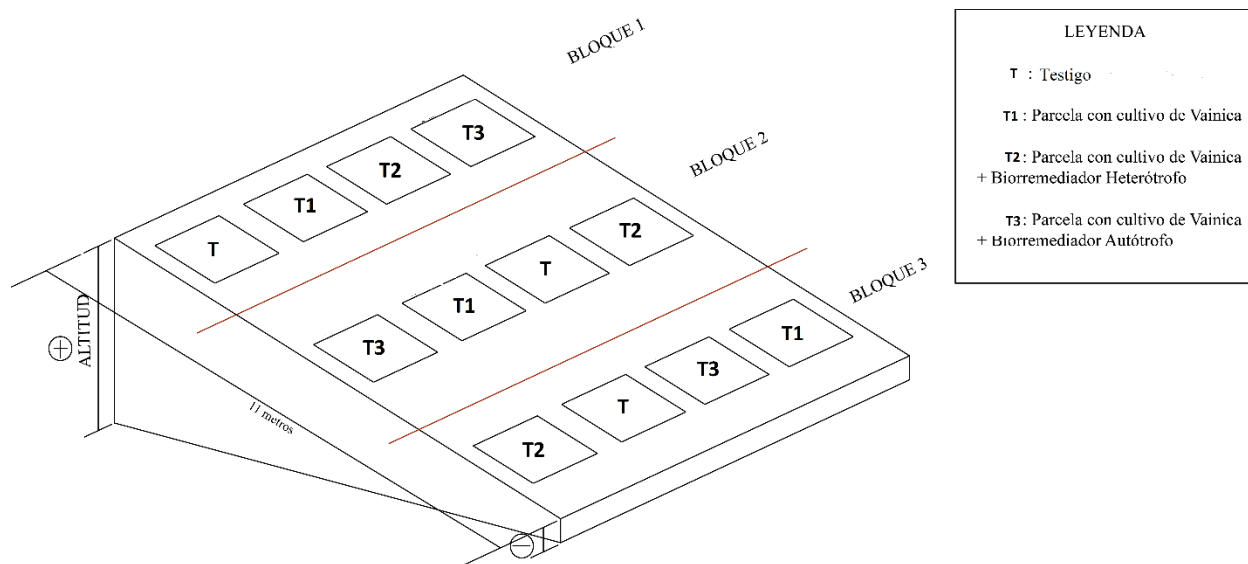
Previo a implementar el ensayo de biorremediación se determinó una serie de parámetros iniciales del suelo de la parcela, los cuales incluyeron características químicas y microbiológicas. Específicamente se realizaron las siguientes determinaciones:

- Análisis de residuos de plaguicidas: tipo y concentración (ver el Anexo 3).
- Análisis químico: determinación de las propiedades químicas (pH, CE, acidez, Ca, Mg, K, P, Cu, Fe, Zn, Mn, S, C, N) (ver matriz de información Anexo 2).
- Análisis microbiológico: biomasa microbiana (mg C/g de suelo).
- Conteo de nematodos (ver el Anexo 4).

### *Toma de muestras de suelo para caracterización*

Antes de la toma de muestras y desarrollo experimental, la parcela se dividió en tres bloques diferenciados por el factor de pendiente. Para esto, se midió el largo del área dispuesta por el productor, desde el punto más alto hasta el más bajo y el valor obtenido se dividió entre 3 para obtener el ancho de cada bloque (ver la Figura 6). Cada bloque se dividió en 4 subparcelas de 3×3 m (9 m<sup>2</sup>), separadas claramente mediante acordonamiento.

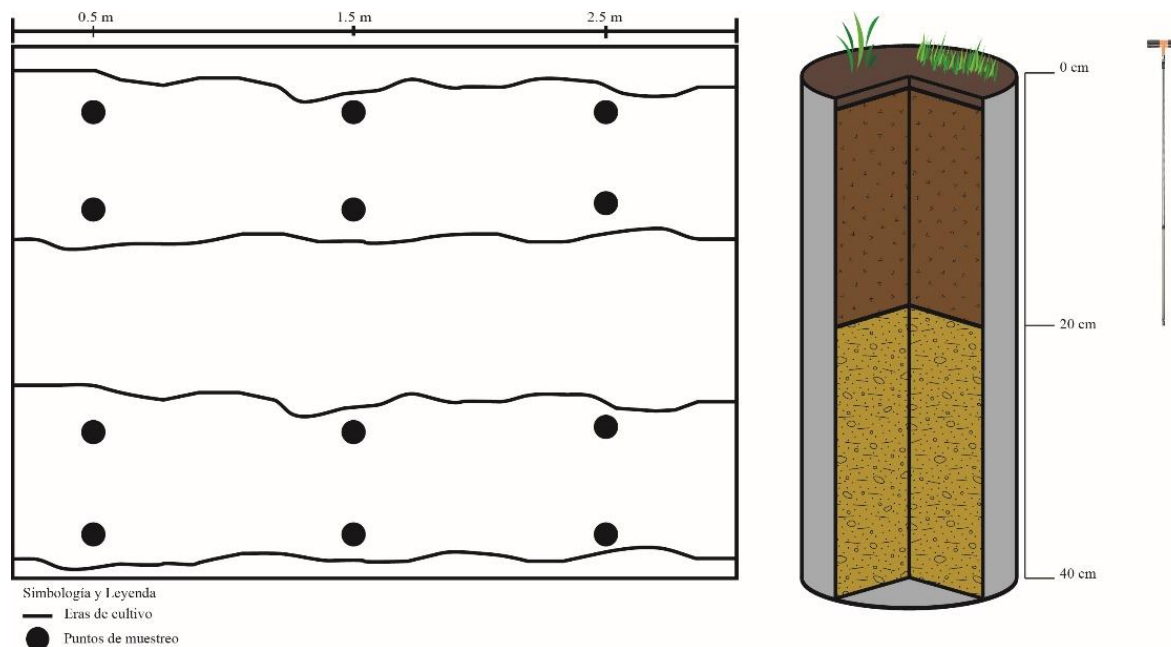
**Figura 6**  
*Área experimental*



*Tomado de: Elaboración propia*

Debido a que el modelo de cultivo de la finca es mediante eras, cada subparcela contuvo en su área aproximadamente dos eras. Por lo tanto, las muestras de suelo se tomaron de las eras dentro de las parcelas en una configuración como se muestra en la Figura 7.

**Figura 7**  
*Diseño de muestreo en campo*



*Tomado de: Elaboración propia*

Para la toma de muestras se utilizó un barreno. De cada subparcela se tomó suelo de 12 puntos distintos a una profundidad máxima de 20 cm. El suelo se colocó en una cubeta de aluminio completamente limpia para su transporte a la zona de homogenización. El suelo se homogeneizó sobre un plástico y se tomó la muestra final de aproximadamente medio kg mediante el método de cuarteo. Por lo tanto, se utilizaron los cuartos de muestra dispuestos en diagonal (ver la Figura 8). Las muestras se guardaron en bolsas con sello tipo Ziploc a las cuales se les agregaron etiquetas con el código de muestra.

Para efectos de registro, la información relacionada con la fecha y hora del muestreo, las condiciones climáticas en las que se realizó el muestreo y las coordenadas del punto de muestreo se dispusieron en una hoja de muestreo de campo (ver el Anexo 1). Las bolsas con muestra se colocaron en una hielera con una división interna para utilizar una zona para el transporte de muestras y otra zona para agregar hielo y mantener las muestras a una temperatura óptima.

Los equipos que se utilizan para la toma de muestras (palín, cubeta, barreno y superficie plástica de cuarteo) fueron desinfectados posterior al muestreo realizado por cada subparcela. Para esto, se lavaron con agua, se secaron y, posteriormente, se limpiaron con alcohol etílico comercial.

### **Figura 8**

*Método de cuarteo de la muestra*



*Tomado de: Elaboración propia*

Las muestras por subparcelas, que fueron 12 en total, se dividieron en 4 partes para la realización de análisis químico, microbiológico, de residuos de plaguicidas y nematológico. Las muestras para análisis de residuos de plaguicidas se procesaron en el laboratorio de residuos de plaguicidas del IRET (LAREP-IRET) y las muestras para análisis químico y microbiológico se analizaron en los laboratorios del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica. Las muestras tomadas para análisis nematológico se evaluaron en el laboratorio de Nematología de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional.

## **Productos comerciales para biorremediación de suelos**

Los productos microbianos aplicados a las parcelas de biorremediación consistieron en dos productos comerciales diferentes, los cuales son recomendados para este propósito: uno a base de microorganismos heterótrofos (bacterias + hongos saprófitos) y otro a base de microorganismos autótrofos (microalgas y cianobacterias) estos se describen a continuación.

Producto a base de microorganismos autótrofos: es un producto compuesto principalmente por microalgas cianófitas y clorófitas en estado de reposo, ambos son microorganismos autótrofos, es decir, que poseen la capacidad de generar su propio alimento vía fotosíntesis, por lo tanto, no compiten con las plantas por la disposición de nutrientes. Asimismo, tienen la habilidad de fijar nitrógeno 100 % asimilable, producen ácidos orgánicos que disponibilizan el fósforo y reducen la compactación y erosión del suelo. Además de mejorar la capacidad de retención de agua.

Producto a base de microorganismos heterótrofos: producto compuesto por bacterias y hongos saprófitos (heterótrofos), es decir, que obtienen su energía de materia orgánica del suelo. El producto está diseñado para acelerar la descomposición de residuos orgánicos, elimina residuos tóxicos y mejora la calidad microbiológica del suelo, lo que aumenta la población de organismos benéficos.

## **Identificación de microorganismos presentes en productos de biorremediación**

Con el objetivo de verificar la calidad de los productos comerciales antes descritos, se realizó un análisis para comprobar la presencia y número de los microorganismos en estos. Lo anterior permitió asegurar que lo que se aplica al suelo como método de biorremediación es en efecto lo que se indica en la etiqueta de los productos comerciales.

Para el producto a base de microorganismos heterótrofos se solicitó al CIA realizar un cultivo para corroborar la existencia de los principales microorganismos indicados en la etiqueta del producto. Estos corresponden específicamente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Aspergillus niger*. Este análisis se realizó mediante la metodología de diluciones seriadas y subsiguiente cultivo y conteo en medio nutritivo en plato Petri.

Por otro lado, se realizó una observación de la presencia de algas en el producto a base de microorganismos autótrofos. Para esto, fue necesario cultivar el producto en los medios BG-11 (Allen, 1968) y BBM (Bischoff y Bold, 1963) por un periodo de 15 días, posteriormente, se observó la presencia de estos organismos mediante microscopio a una potencia 20x.

### **Especie vegetal que se utiliza**

Dentro de los tratamientos de biorremediación se incorporó la especie vegetal *Phaseolus vulgaris* (*Fabaceae*), popularmente conocida como vainica, variedad Provider. Esta es una especie arbustiva de crecimiento determinado.

### **Evaluación de los tratamientos de biorremediación**

#### ***Diseño experimental***

Para evaluar los tratamientos de biorremediación se implementó un diseño de bloques completos al azar. Se trató de un diseño unifactorial con 4 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento (subparcelas) para un total de 12 unidades experimentales (ver la Figura 6). A cada subparcela se aplicó uno de los siguientes tratamientos:

Testigo: sin intervención. Permite tener información sobre el comportamiento *natural* de los plaguicidas en el tiempo. Por ejemplo, en caso de presentarse degradación por efecto de las condiciones ambientales prevalentes en el periodo de estudio.

- Tratamiento 1: parcelas con la presencia exclusiva del cultivo de vainica.
- Tratamiento 2: parcelas sembradas con el cultivo de vainica y la aplicación del producto a base de microorganismos heterótrofos.
- Tratamiento 3: parcelas sembradas con el cultivo de vainica y la aplicación del producto a base de microorganismos autótrofos.

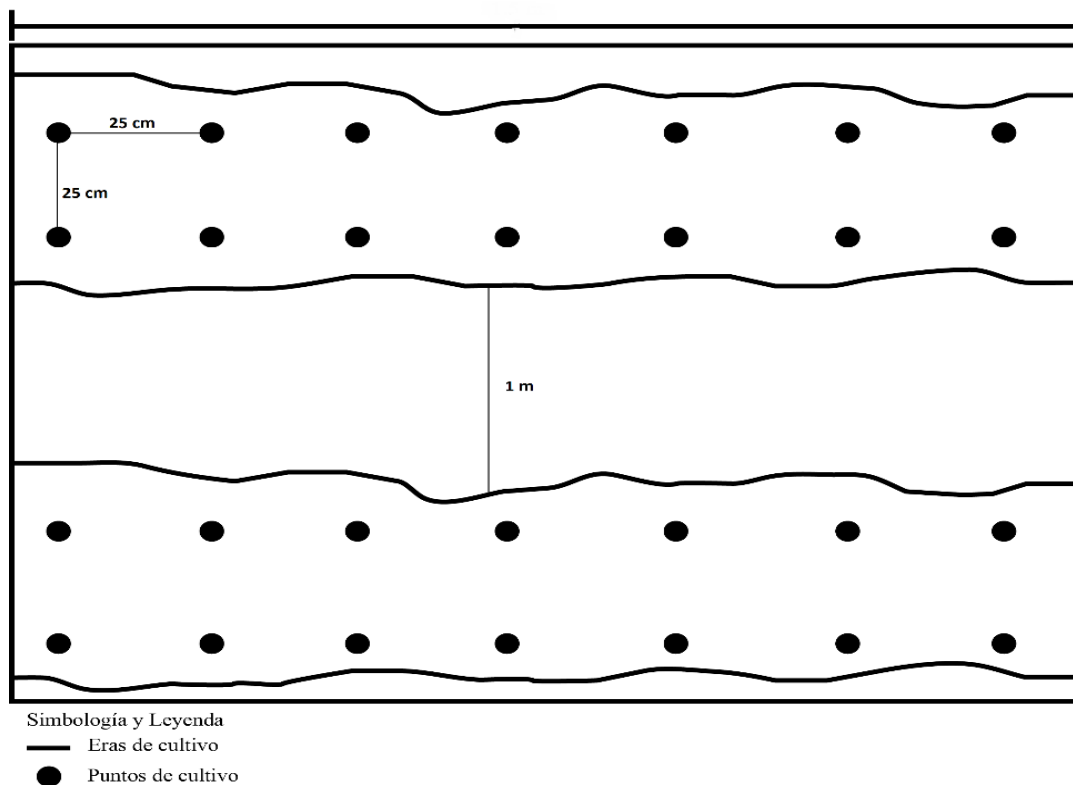
## **Establecimiento del ensayo**

### ***Siembra de vainica***

Para establecer el ensayo, primero se procedió a sembrar vainica en las subparcelas asignadas a los tratamientos 1, 2 y 3. La siembra se realizó de acuerdo con los parámetros recomendados para este cultivo, es decir, a una distancia de 25 cm entre plantas y 1 m entre eras (ver la Figura 9).

**Figura 9**

*Parámetros de siembra de vainica para ensayo de biorremediación de suelos*



*Tomado de: Elaboración propia*

Para la siembra se realizaron orificios de 3 a 5 cm de profundidad aproximadamente, en los cuales se depositaron 3 semillas de vainica. Los orificios se taparon con una capa ligera de suelo para facilitar el crecimiento de las plántulas en sus primeras etapas.

### ***Aplicación de productos para biorremediación***

Después de la siembra de la vainica, las subparcelas asignadas al tratamiento 2 se aplicaron con una solución del producto a base de microorganismos heterótrofos a la dosis recomendada por el fabricante de 3 l/ha. Esto se debe a que las parcelas asignadas a este tratamiento conformaron un área de 27 m<sup>2</sup>, la dosis total aplicada para este tratamiento fue de 8.1 ml. Las aplicaciones del producto se realizaron cada 20 días durante el ciclo completo de

producción de la vainica (75 días aproximadamente). Por lo tanto, se llevaron a cabo 3 aplicaciones en total.

Las subparcelas asignadas con el tratamiento 3 se aplicaron con el producto comercial a base de microorganismos autótrofos a la dosis recomendada por el fabricante, que es de 70 g/ha. Al igual que en el caso del producto anterior, el área experimental designada para este tratamiento correspondió a 27 m<sup>2</sup>, por lo tanto, la dosis que se utiliza para estas parcelas fue de 0,2 g. El producto se aplicó cada 20 días durante el ciclo productivo de la vainica, lo que se traduce en 3 aplicaciones en total.

## **Análisis de resultados**

### ***Caracterización del suelo de la parcela experimental***

Los datos de la caracterización química, biológica y determinación de los plaguicidas del suelo se analizaron mediante análisis de coordenadas principales (PCO por sus siglas en inglés; Anderson, 2001). Lo anterior, con la finalidad de analizar los resultados de forma integral, al considerar todas las variables en conjunto. En todos los casos, se analizaron los resultados por bloque para considerar diferencias de acuerdo con la pendiente del terreno. Los datos de la caracterización química y biológica fueron transformados aplicando raíz cuarta. En el caso de los datos biológicos se incluyó una variable dummy = 1, debido a que había determinaciones con valor de cero. En el caso de los plaguicidas no se realizó transformación, pero se incluyó una variable dummy = 1.

Con los datos transformados se calcularon las matrices de semejanza utilizando distancia euclidiana. Una vez que se generaron los gráficos, se incluyeron vectores que indican las variables que causan la mayor influencia en la distribución y separación de las muestras en el

plano multidimensional. Es decir, las variables cuyo coeficiente de correlación de Pearson con PCO1 o PCO2 fue  $> 0,8$  (Anderson *et al.*, 2008).

### **Evaluación de los tratamientos de biorremediación**

Para evaluar la eficiencia de los tratamientos de biorremediación aplicados a las subparcelas se realizó un análisis permutacional de varianza (Permanova) en el que se compararon los conjuntos de plaguicidas cuantificados en suelo de las subparcelas aplicadas con los tratamientos de biorremediación, con respecto a los plaguicidas cuantificados en la subparcela testigo, sin aplicación de tratamientos de biorremediación, en cuanto a los plaguicidas cuantificados en las subparcelas testigo. Antes del Permanova, los datos de concentraciones de plaguicidas se transformaron mediante la función matemática  $\text{Log}(X+1)$ . La matriz de semejanza se construyó aplicando distancia euclidiana. Por otro lado, se construyó un PCO que incluyó un vector, como se indicó. Los análisis estadísticos se realizaron con el *software* Primer v6+Permanova (Primer-E Ltd.).

### **Propuesta de biorremediación y material de comunicación al productor**

Para formular la propuesta de biorremediación se seleccionó el método con mejores resultados. Para estos efectos se diseñó un breve documento con indicaciones sencillas por considerar para realizar un proceso exitoso de biorremediación de suelos. Este documento es de utilidad únicamente para los productores cuyos suelos posean requisitos o características homologables al área de estudio.

La comunicación de los resultados de los procesos experimentales se realizó mediante una actividad en campo junto con el productor propietario del área experimental. En esta actividad se expuso brevemente cada técnica de biorremediación que se utiliza en el experimento

de campo, se indicó la más efectiva y se amplió la información sobre esta técnica en específico. Este documento también incluyó buenas prácticas agrícolas para disminuir el uso de plaguicidas y para manejar el suelo de forma adecuada.

Además, se desarrolló una charla-taller en línea para los productores de la zona de Zarcero, en donde se expuso el modelo experimental, los tratamientos de biorremediación aplicados y los resultados. Durante la actividad se incentivó la participación de los productores mediante consultas que propiciaban la intervención y compartir vivencias.

## Capítulo IV. Resultados y discusión

### Caracterización de suelo de la parcela experimental

De acuerdo con la entrevista inicial realizada al agricultor, entre 2019 y 2021 se han aplicado a la parcela en estudio diversos plaguicidas con acción herbicida, fungicida e insecticida-nematicida (ver el Cuadro 2). Por lo tanto, es posible que residuos de estos productos sean detectados en los análisis de suelo, esto según la residualidad, movilidad y degradabilidad particular de cada plaguicida. Además, durante el periodo indicado, se aplicaron otros insumos agrícolas como fertilizantes, enmiendas, productos hormonales y biológicos.

#### Cuadro 2

*Productos agrícolas aplicados a la parcela experimental en el periodo 2019-2021*

<b>Utilidad</b>	<b>Ingrediente activo</b>
Herbicida	Linuron
	Cletodim
	Paraquat
	Oxifluorfen
Insecticida	Cipermetrina
	Abamectina
	Forato
	Clorpirifos
Fungicida	Mancozeb
	Fosetil
	Clorotalonil

---

	Dimetomorf
Fertilizante	Nitrógeno-fósforo-potasio
	Magnesio
Enmiendas	Óxido de calcio, hidróxido de calcio, óxido de magnesio
	Carbonato de magnesio, óxido de magnesio, carbonato de calcio, óxido de calcio
Hormonal	Auxinas, citoquininas
	Ácido húmico, algas marinas
Biológico	<i>Trichoderma</i> sp.
	<i>Paecylomices</i> sp.
	<i>Pochonia</i> sp.

---

*Tomado de: Elaboración propia*

Las observaciones del área de estudio reflejaron el problema descrito por el agricultor, ya que se observó en cultivos de culantro y maíz un marcado comportamiento de subdesarrollo en *parchones*. Es decir, es observable en una misma era o cama de cultivo que existen plantas con un marcado rezago en el crecimiento en contraste con plantas que poseen un desarrollo óptimo y vigoroso (ver Figura 10 y Figura 11).

La experiencia del productor indica que este comportamiento ha sido sostenido a lo largo de aproximadamente 10 años, sin presentar crecimiento o decrecimiento en el área, sin importar los productos aplicados. Este comportamiento de subdesarrollo también es observable en la maleza, la cual, según comentarios del productor, presenta una velocidad de crecimiento menor de lo habitual.

**Figura 10**

*Subdesarrollo en cultivo de maíz - finca José López*



*Tomado de:* Fotografías de campo tomadas de la finca de José López, 27 de agosto de 2021.

**Figura 11**

*Subdesarrollo en cultivo de culantro - finca José López*



*Tomado de:* Fotografías de campo tomadas de la finca de José López, 27 de agosto de 2021.

## Caracterización de la parcela experimental

### *Caracterización fisicoquímica*

Los parámetros químicos de la parcela experimental mostraron heterogeneidad, incluso en zonas aledañas, en contraste los parámetros físicos mostraron homogeneidad. Lo anterior evidencia la naturaleza compleja del suelo en el ámbito espacial (Cuadro 3, Anexo 6).

### **Cuadro 3**

#### *Análisis fisicoquímico-valores promedio por bloque*

<b>Análisis químico de suelo</b>					
<b>Unidades</b>	<b>Indicador</b>	<b>Valor guía</b>	<b>Bloque 1</b>	<b>Bloque 2</b>	<b>Bloque 3</b>
	pH	5,5	5,2	5,1	5,0
<b>Cmol (+)/L</b>	Acidez	0,5	1,0	0,9	0,6
	Ca	4	2,6	2,8	3,7
	Mg	1	0,3	0,4	0,7
	K	0,2	0,4	0,4	0,5
	CICE	5	4,3	4,5	5,6
<b>%</b>	SA		23	20,7	11,5
<b>mg/L</b>	P	10	37,8	44,3	44,3
	Zn	3	3,8	4,7	4,9
	Cu	1	7,7	7,5	8
	Fe	10	126,8	132	117,5
	Mn	5	16,5	9,7	9,7
	CE	1,5	0,2	0,2	0,2

%	C	6,2	6,3	6,4
	N	0,6	0,7	0,7
	C/N	9,5	9,4	9,4
<b>Textura</b>		Franco arenoso	Franco arenoso	Franco arenoso

*Tomado de: Elaboración propia con datos propios y del CIA-UCR*

Del conjunto de datos presentados se puede deducir de forma general cuatro grandes componentes diferenciales: textura del suelo, acidez, nutrientes y relación carbono/nitrógeno, cuyo comportamiento se detalla a continuación.

### ***Textura del suelo***

Según el MAG (2022), los suelos en la zona de Zarcero en su mayoría son de tipo andisol. Un análisis realizado por Bonilla *et al.* (2022), en el área de muestreo demostró que la textura es de tipo franco-arenosa (20 % limo, 62 % arena, 18 % arcilla), típica de suelos andisoles en zonas altas o cercanas a volcanes.

### ***Acidez***

El valor de pH en los bloques es relativamente bajo (ácido), ya que presenta valores por debajo del valor guía (ver el Cuadro 3). La acidez del suelo está determinada por una alta disponibilidad de iones hidronio ( $H^+$ ) y aluminio ( $Al^{+3}$ ), así como por una deficiencia marcada de bases (Ca, Mg, K). En los resultados de todas las parcelas, este último aspecto parece tener incidencia en los problemas de acidez, ya que en todos los bloques el valor de acidez supera el 10 % del valor total de la capacidad de intercambio catiónico (CICE, dado por la concentración de bases) (Méndez y Bertsch, 2012)).

Se sabe que los suelos ácidos y la presencia de aluminio ( $Al^{+3}$ ) pueden generar efectos tóxicos o entorpecer el desarrollo de las plantas (Kidd y Proctor, 2001). Por lo tanto, el comportamiento del pH y, por consiguiente, de la acidez en las parcelas puede producir un efecto negativo en el crecimiento de los cultivos en el área. Esto puede estar relacionado con la conducta de subdesarrollo observado en las plantas.

Por otro lado, el pH puede afectar la manera en la que los plaguicidas se adsorben a la fracción coloidal del suelo (Stougaard *et al.*, 1990), lo que puede generar mayor o menor biodisponibilidad para su degradación en un proceso de biorremediación. Sin embargo, esto depende también de las propiedades moleculares de cada plaguicida (Rasool *et al.*, 2022).

### ***Nutrientes***

Los resultados indican que los nutrientes presentes en el suelo (P, Zn, Cu, Fe y Mn) se encuentran en exceso en la mayoría de las muestras en comparación con los valores guía (ver el Cuadro 3). En cuanto a los valores de los niveles críticos expuestos por Méndez y Bertsch (2012), se puede denotar que los valores de P y Fe son altos en todas las muestras, mientras que los valores de Zn, Cu y Mn se pueden interpretar como valores medios.

En ninguno de los casos que se evaluaron los datos reportados para nutrientes presentan anomalías ni exceden los niveles críticos. Con base en lo anterior, se descarta la posibilidad de que el subdesarrollo vegetal observado en algunas zonas de la parcela experimental se deba a deficiencias de nutrientes en el suelo.

### ***Relación carbono/nitrógeno***

El valor adimensional establecido bajo el indicador C/N (ver el Cuadro 3) ofrece información importante sobre la fertilidad del suelo, es identificable que existe en todos los

bloques un valor promedio entre 9-10. Esto refleja un estado positivo de fertilidad en los suelos muestreados debido a que un valor de C/N cercano a 10 establece una estabilidad adecuada de ambos nutrientes en el suelo, que favorece la estimulación de la actividad microbiana y el crecimiento de las plantas (Gamarra *et al.*, 2018).

### **Análisis integral de características químicas**

El análisis integral de los aspectos químicos de los bloques (ver la Figura 12) muestra un comportamiento distinto entre el bloque 3 y los bloques 1 y 2. Las 4 muestras del bloque 3 presentan características más homogéneas entre ellas (están más cerca entre sí), mientras que las 3 muestras tomadas en los bloques 1 y 2 muestran características menos homogéneas, lo que se visualiza por una mayor dispersión de los puntos en el plano multidimensional (ver la Figura 12).

Al observar el vector es posible verificar que las diferencias entre los tres bloques se encuentran en la CICE y concentraciones de Ca y Mg. Los resultados indican que el bloque tres posee mayor CICE (ver el Cuadro 3), relacionada con una mayor disponibilidad de bases (Ca y Mg). Esto se debe a que el bloque tres se encuentra en la zona más baja de la pendiente del terreno, se sugiere un efecto de arrastre de bases por efecto de escorrentía y acumulación de estas.

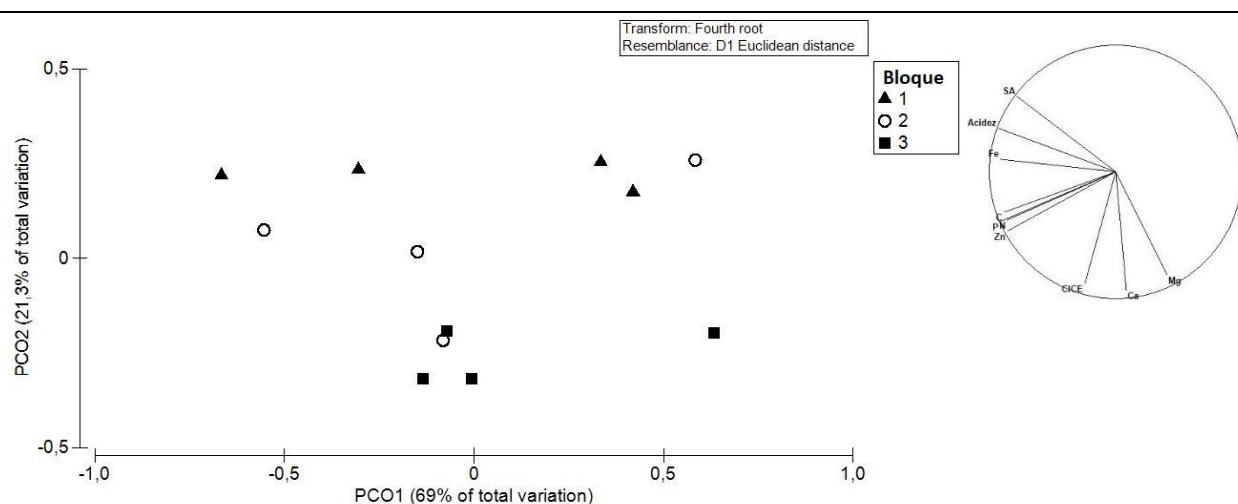
Lo anterior también incide en una mayor concentración de iones hidronio ( $H^+$ ) y aluminio ( $Al^{+3}$ ) en el bloque tres con respecto a los otros dos bloques. Estos iones saturan los sitios de intercambio, lo que provoca que las bases disponibles en el suelo no puedan generar ligandos con la fracción coloidal, lo que afecta la fertilidad del suelo (Rahman *et al.*, 2018).

Las características mencionadas pueden producir un comportamiento diferente del bloque tres en los procesos de biorremediación, en cuanto al bloque uno y dos. Se sabe que en los

sistemas en los que el pH es bajo, la mayor disposición de  $H^+$  restringe significativamente el potencial de unión de los plaguicidas catiónicos a la fracción coloidal (Ratnasari *et al.*, 2022). Esto puede generar una mayor biodisponibilidad de plaguicidas en el bloque tres, lo que facilita los procedimientos de biorremediación.

### Figura 12

*Análisis de coordenadas principales de las características químicas de tres bloques de la parcela experimental*



Tomado de: *Elaboración propia*

## Caracterización biológica

### *Biomasa microbiana*

La cantidad de carbono de la biomasa microbiana fue heterogénea en los bloques de la parcela experimental, se puede observar que existen bloques con una cantidad mayor de biomasa microbiana en comparación con sus homólogos (Cuadro 4, Anexo 7). Algunos autores han reportado valores de biomasa microbiana en suelos agrícolas alrededor de 200 a 400 mg C/kg de suelo y valores superiores a los 1000 mg C/kg suelo en suelos de bosque (Dalal, 1998; Nsabimana *et al.*, 2004).

Con base en lo anterior, es posible establecer que la biomasa microbiana en los bloques de la parcela experimental se encuentra por debajo de lo esperado en un suelo agrícola, lo cual puede tener efectos negativos en la degradación natural de plaguicidas. Por otro lado, los valores relativamente bajos de biomasa microbiana pueden ser reflejo del uso intensivo de plaguicidas y el modelo productivo convencional en la parcela experimental a través del tiempo, en adición, Castro (1995), determinó que la biomasa microbiana de los suelos sometidos a cultivos se reducía en contraste con los suelos de barbecho.

#### **Cuadro 4**

*Biomasa microbiana en el suelo-valores promedio por bloque ( $\pm DE$ )*

<b>Resultados de biomasa microbiana</b>	
<b>Bloque</b>	<b>Biomasa (mg C/Kg suelo)</b>
1	154,5 $\pm$ 62,4
2	153,5 $\pm$ 30,1
3	117,2 $\pm$ 44,0

*Tomado de: Elaboración propia con datos del CIA-UCR*

La cantidad de biomasa microbiana es un buen indicador de la salud de los suelos, ya que un alto contenido de microorganismos incide positivamente en los procesos de compostaje, la descomposición de materia orgánica y el reciclaje de nutrientes (Pérez *et al.*, 2020). Además, contribuyen en la degradación de agentes contaminantes que estén presentes en el medio mediante diversas rutas catabólicas (Chowdbury *et al.*, 2008). Por este motivo, el contabilizar altas cantidades de biomasa microbiana en suelo incrementa las posibilidades de diversificar rutas metabólicas que contribuyan significativamente a los procedimientos de eliminación de plaguicidas.

Resulta de interés indicar que las parcelas con menor cantidad de biomasa microbiana también presentaron los valores de pH más ácidos. De acuerdo con Abdul *et al.* (2021), el pH del suelo es el factor más importante que puede afectar la composición y tamaño de las comunidades microbianas del suelo. Esto se debe a que la cantidad de biomasa microbiana presente en el área experimental es relativamente baja, aspecto que puede estar asociado a la acidez y puede predecirse un efecto negativo en la atenuación natural de los plaguicidas en el suelo.

### ***Nematodos***

Para la interpretación del conteo de nematodos se dividieron las categorías en dos grandes grupos, las especies parasitarias de plantas (*Meloydogine* sp., *Helicotylenchus* sp., *Aphelenchus* sp., *Aphelenchoides* sp., *Mesocriconema* sp., *Trichodorus* sp. y *Tylenchus* sp.) y las de vida libre, que no son parásitas de plantas.

Los géneros parasitarios se encuentran en bajas concentraciones en la mayoría de los bloques, a excepción de *Helicotylenchus* sp. en el bloque tres (ver el Cuadro 5 y Anexo 8). Esta anomalía no se presenta de nuevo en otros bloques, por lo tanto, no se vincula necesariamente al comportamiento del cultivo en el área de estudio. La baja aparición de especies parasitarias en contraste con las de vida libre en el conteo puede corresponder a un reflejo de la actividad agrícola convencional y el uso de nematicidas, así como a la existencia generalizada y mayor cantidad en las parcelas de nematodos de vida libre, ya que se sabe que estos últimos, además de no afectar las plantas, se pueden alimentar de las especies parasitarias (Lara *et al.*, 2003).

Resulta de interés resaltar la presencia de un mayor número de nematodos de vida libre en comparación con los fitoparásitos. Sin embargo, en algunos casos su número está por debajo de lo esperado para un suelo agrícola con buena cantidad de materia orgánica y un valor

aceptable de biomasa microbiana, como lo indican los resultados previos. Algunos autores reportan valores de nematodos de vida libre que van desde los 500 individuos hasta más de 20 000 individuos por cada 100 g de suelo (Duley, 2009; Martínez, 2013). Los resultados demuestran que es poco probable que el crecimiento deficiente de plantas en la parcela experimental sea el resultado de una infestación de nematodos fitoparásitos.

### **Cuadro 5**

*Conteo de nematodos-valores promedio por bloque ( $\pm$  DE)*

<b>Nematodos asociados</b>	<b>Muestra de 100 g de suelo</b>		
	<b>Bloque 1</b>	<b>Bloque 2</b>	<b>Bloque 3</b>
<i>Meloydogine sp.</i>	4 $\pm$ 5	10 $\pm$ 7	16 $\pm$ 15
<i>Helicotylenchus sp.</i>	1 $\pm$ 1	11 $\pm$ 11	43 $\pm$ 48
<i>Aphelenchus sp.</i>	3 $\pm$ 3	6 $\pm$ 3	12 $\pm$ 5
<i>Aphelenchoides sp.</i>	10 $\pm$ 10	6 $\pm$ 5	9 $\pm$ 9
<i>Mesocriconema sp.</i>	1 $\pm$ 2	2 $\pm$ 1	0 $\pm$ 0
<i>Trichodorus sp.</i>	0 $\pm$ 0	2 $\pm$ 3	0 $\pm$ 0
<i>Tylenchus sp.</i>	0 $\pm$ 0	3 $\pm$ 6	3 $\pm$ 3
<b>Vida libre</b>	91 $\pm$ 33	169 $\pm$ 167	203 $\pm$ 120

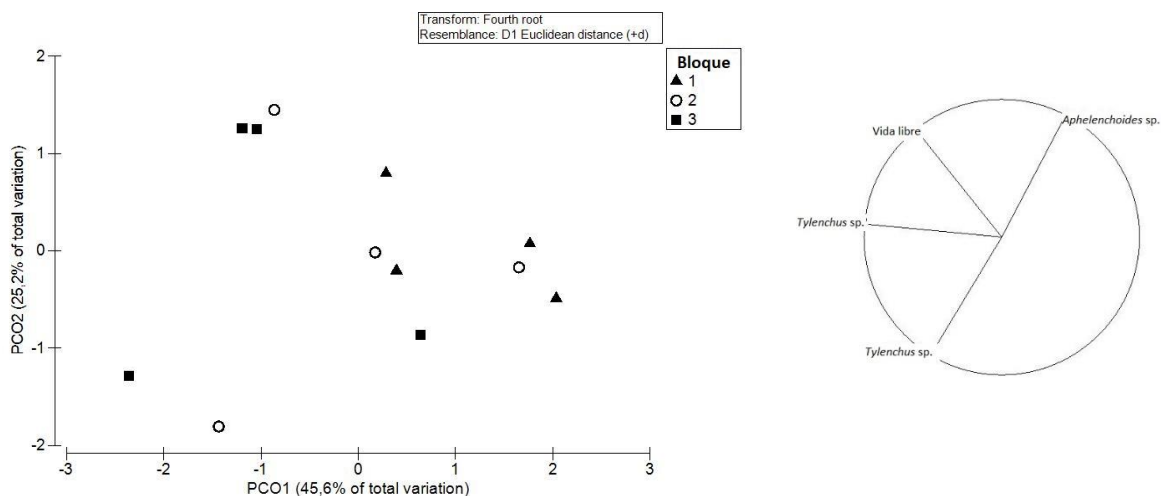
*Tomado de: Elaboración propia con datos del CIA-UCR*

### **Análisis integral de características biológicas**

El análisis integral de las variables biológicas de los suelos no evidenció algún patrón o particularidad en los bloques (ver la Figura 12). Algunas subparcelas de los bloques dos y tres tienden a separarse a lo largo del PCO1, debido principalmente a diferencias en el número de *Helicotylenchus sp.* y *Tylenchus sp.* de acuerdo con el vector.

### Figura 13

*Análisis de coordenadas principales de las características biológicas de los bloques de la parcela experimental*



Tomado de: *Elaboración propia*

### Plaguicidas

Previo a aplicar los tratamientos de biorremediación, el suelo de la parcela experimental presentó residuos de 16 plaguicidas en total (ver el Cuadro 6), distribuidos de forma generalizada en el terreno. Un 31,25 % de los plaguicidas que se identifican poseen una acción biocida insecticida-nematicida-acaricida, los fungicidas comprendieron un 25 %, insecticidas y herbicidas abarcaron un 12,5 % cada uno. En cuanto a los metabolitos (productos de degradación de plaguicidas), estos corresponden a un 18,75 % del total identificado. Además, al menos un 61 % de los plaguicidas que se identifican (por ej., carbofuran, cipermetrina y clorpirifos) se consideran altamente peligrosos (PAN, 2021).

La mayoría de los plaguicidas detectados poseen baja solubilidad en agua, poca o nula volatilidad y ligera movilidad en suelo. Estos factores justifican que la persistencia en suelo de los plaguicidas que se encontraron sea de media a extrema (Edwards, 1975) (ver el Cuadro 6).

**Cuadro 6***Plaguicidas detectados en la parcela experimental y algunas de sus características generales*

<b>Plaguicida</b>	<b>Acción biocida</b>	<b>Solubilidad en agua</b>	<b>Persistencia en suelo</b>	<b>Movilidad en suelo</b>	<b>Volatilidad</b>
Boscalid	Fungicida	Baja	Extrema	Ligera	No
Buprofezin	Insecticida/Acaricida	Baja	Extrema	Ligera	Moderada
Carbofuran	Insecticida /Acaricida/ Nematicida	Moderada	Media	Extrema	No
Cipermetrina	Insecticida/Acaricida	Baja	Alta	No	No
Clorpirifos	Insecticida	Baja	Extrema	Ligera	Ligera
Flutolanil	Fungicida	Baja	Extrema	Media	No
Forato	Insecticida /Acaricida/Nematicida	Baja	Alta	Ligera	Moderada
Imidacloprid	Insecticida	Alta	Extrema	Media	No
Linuron	Herbicida	Moderada	Extrema	Ligera	No
Metalaxil	Fungicida	Alta	Alta	Extrema	No
DDD	Metabolito	-	-	-	-
DDE	Metabolito	-	-	-	-
Tebuconazol	Fungicida	Baja	Extrema	Ligera	No
Terbufos sulfone	Insecticida/Nematicida	Baja	Ligera	Media	Moderada
Terbutrina	Herbicida	Baja	Alta	Ligera	No
4-hidroxi clorotalonil	Metabolito	Moderada	Alta	Media	-

*Tomado de: Elaboración propia con datos del Manual de Plaguicidas de Centroamérica (2023).*

Por otra parte, las características químicas de los plaguicidas detectados son variables (ver el Cuadro 7). Por ejemplo, se puede observar que existen diferencias sustanciales de peso molecular de la cipermetrina (416,3 g/mol) y el metalaxil (279,33 g/mol). Esta característica es relevante en procesos de biodegradación (Alfaro, 2013), ya que las moléculas con peso molecular alto, como la cipermetrina, pueden retrasar significativamente la velocidad de biodegradación en comparación con el metalaxil.

### **Cuadro 7**

*Características químicas de los plaguicidas detectados en la parcela experimental*

<b>Plaguicida</b>	<b>Fórmula molecular</b>	<b>Peso molecular (g/mol)</b>	<b>Coefficiente de partición octanol/agua</b>	<b>Vida media en campo (DT 50) en días</b>
Boscalid	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	342,2	2,96	254
Buprofezin	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> OS	305,4	4,5	29,1
Carbofuran	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	221,26	1,8	14
Cipermetrina	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	416,3	5,55	21,9
Clorpirifos	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	350,6	4,7	27,6
Flutolanil	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>	323,31	3,17	105
Forato	C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>	260,4	3,86	63
Imidacloprid	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	255,66	0,57	174
Linuron	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	249,09	3,0	48
Metalaxil	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	279,33	1,75	14,1
DDD	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>4</sub>	320,04	6,02	1000 (típico)
DDE	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	318,0	-	-

Tebuconazol	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	307,82	3,7	47,1
Terbufos sulfone	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>3</sub>	320,4	-	-
Terbutrina	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	241,36	3,66	52
4 hidroxí clorotalonil	C <sub>8</sub> HCl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	247,5	0,61	-

Tomado de: *Elaboración propia con datos de PPDB (2023).*

Las concentraciones de plaguicidas cuantificados en los bloques de la parcela experimental fueron diversas y se observan valores bajos, por ejemplo, tebuconazole y terbutrina (menores que 1 ng/g) y otros plaguicidas con una presencia mayor como cipermetrina, forato, linuron y el metabolito 4 hidroxí-clorotalonil (mayores que 20 ng/g). A continuación, se muestra en valores promedio las cantidades encontradas de cada plaguicida por bloque.

### **Cuadro 8**

*Concentraciones de plaguicidas presentes en la parcela experimental – Resultados promedio por bloque ( $\pm$ DE)*

Plaguicida	Unidad	Bloque		
		1	2	3
Boscalid	ng/g	31,0 $\pm$ 3,6	27,4 $\pm$ 1,7	30,6 $\pm$ 2,5
Buprofezin		2,1 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,3	13,2 $\pm$ 0,5
Carbofuran		7,8 $\pm$ 0,2	8,2 $\pm$ 0,3	18,0 $\pm$ 1,4
Cipermetrina		287,0 $\pm$ 14,8	367,0 $\pm$ 7,5	1058,0 $\pm$ 285,8
Clorpirifos		47,0 $\pm$ 5,3	73,0 $\pm$ 6,5	74,8 $\pm$ 6,1
Flutolanil		3,8 $\pm$ 0,8	3,8 $\pm$ 0,6	7,1 $\pm$ 0,9
Forato		115,0 $\pm$ 15,0	92,0 $\pm$ 5,6	198,2 $\pm$ 16,7

Imidacloprid	3,8 ± 0,2	2,8 ± 0,1	3,7 ± 0,3
Linuron	162,0 ± 8,3	132,0 ± 9,2	207,8 ± 17,5
Metalaxil	27,2 ± 3,4	21,9 ± 1,7	25,8 ± 1,2
DDD	40,0 ± 0,0	40,0 ± 0,0	30,0 ± 5,0
DDE	40,0 ± 0,0	40,0 ± 0,0	30,0 ± 5,0
Tebuconazol	2,0 ± 0,0	2,0 ± 0,0	4,3 ± 0,6
Terbufos sulfone	5,4 ± 1,1	5,5 ± 0,9	4,4 ± 0,8
Terbutrina	0,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2
4-hidroxi clorotalonil	225,7 ± 18,6	154,4 ± 9,9	139,4 ± 17,1

*Tomado de: Elaboración propia*

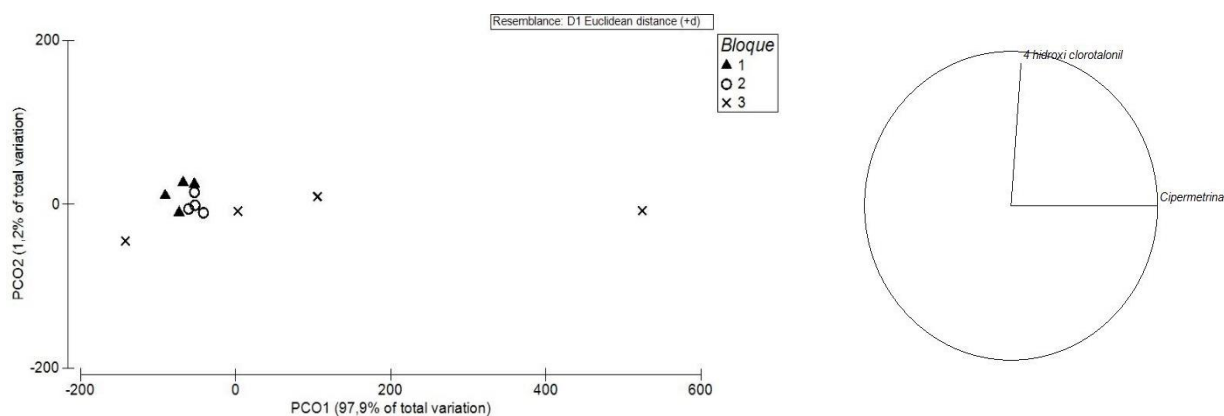
### **Análisis integral de residuos de plaguicidas**

El análisis integral de los plaguicidas detectados (PCO) evidenció una distribución relativamente homogénea de los mismos en el suelo de los bloques 1 y 2 y mayor heterogeneidad en el bloque 3 (ver la Figura 14). Resalta el amplio rango de concentración de cipermetrina con valores que van desde menos de los 50 ng/g hasta más de 250 ng/g, plaguicida que estaría provocando la separación de muestras del bloque 3 (mayor dispersión de puntos en el PCO1).

Por otro lado, el metabolito 4-hidroxi-clorotalonil cuyos valores fluctúan entre los 30 ng/g y 50 ng/g, parece tener influencia en la separación de los puntos a lo largo del PCO2. Los valores que se obtienen de estos plaguicidas son relativamente superiores a los demás plaguicidas identificados (ver el Cuadro 8).

### Figura 14

*Análisis de coordenadas principales de los plaguicidas cuantificados en los tres bloques de la parcela experimental*



Tomado de: *Elaboración propia*

Existe la posibilidad de que la alta concentración de cipermetrina en el bloque tres sea el resultado de su acumulación en la parte más baja de la pendiente por efecto de la escorrentía (ver la Figura 6). Además, este plaguicida es poco soluble en agua, pero altamente persistente en suelo (ver el Cuadro 7). Por lo tanto, su movimiento estaría dado por el arrastre de sedimentos de zonas más altas a zonas más bajas.

Por otra parte, el metabolito 4-hidroxi clorotalonil (4-hidroxi-3,5,6-tricloroisoftalonitrilo), presenta mayor persistencia y movilidad en suelo que su molécula madre (Regitano *et al.*, 2001). Si bien el metabolito explica la variación en los bloques a lo largo del PCO2 (ver la Figura 14), este solo explica un 1,2 % de la variación total de las muestras evaluadas. Sin embargo, existe ligeramente mayor cantidad de este metabolito en comparación con los demás plaguicidas (ver el Cuadro 8).

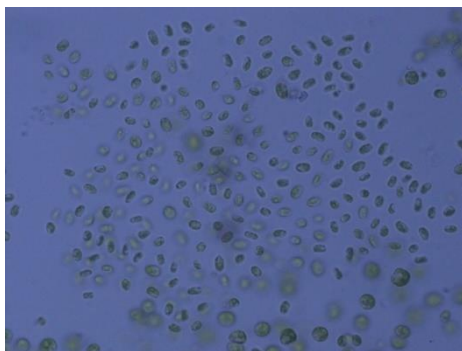
## Control de calidad de productos comerciales para biorremediación de suelos

### *Producto a base de microorganismos autótrofos*

El producto contenía heterocistos de cianobacterias y microalgas que fueron evidentes a los 15 días después de inoculado el medio de cultivo (ver la Figura 15 y la Figura 16). Por lo tanto, se corrobora que los componentes del producto corresponden a los indicados en la etiqueta.

#### **Figura 15**

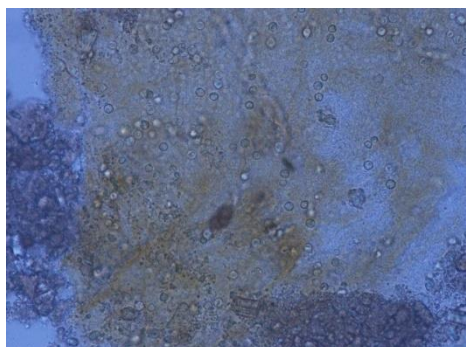
##### *Microalgas*



*Tomado de: Fotografía propia*

#### **Figura 16**

##### *Cistos de cianobacterias*



*Tomado de: Fotografía propia*

### ***Producto a base de microorganismos heterótrofos***

De acuerdo con lo informado, los microorganismos *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Aspergillus niger* no pudieron cuantificarse en el producto. Esto implica que estaban ausentes o que se encontraban en cantidades menores que las 100 UFC/ml, no detectables mediante la metodología usada para este fin.

### **Evaluación de tratamientos de biorremediación**

El suelo de las subparcelas aplicadas con los tratamientos de biorremediación presentó concentraciones de plaguicidas variables y, al analizar las concentraciones de manera individual, es posible determinar diversos comportamientos. La concentración de algunos plaguicidas disminuyó con respecto al testigo, en otros casos no se observaron cambios sustanciales y en otros, contrario a lo esperado, las concentraciones aumentaron en las parcelas aplicadas con los tratamientos de biorremediación comparados con las subparcelas testigo.

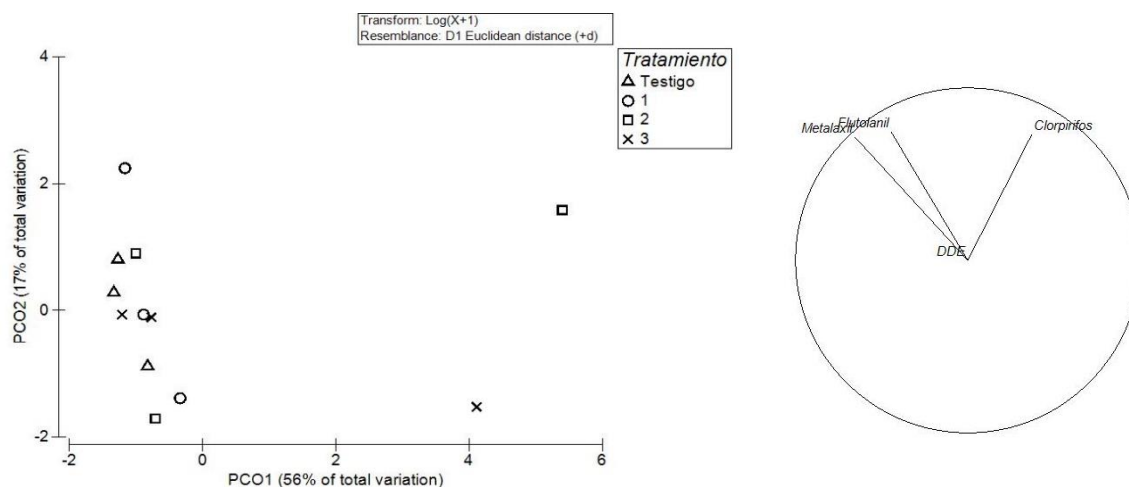
Al visualizar los resultados del análisis de coordenadas principales (PCO; Figura 17), fue posible identificar algunos patrones. El tipo y concentración de plaguicidas presentes en las subparcelas del tratamiento testigo (sin aplicar algún tratamiento de biorremediación) son más similares entre sí (están más cerca en el plano multidimensional). El tipo y la concentración de plaguicidas presentes en las subparcelas aplicadas con algún tratamiento de biorremediación difieren entre sí (están más alejadas entre sí en el plano multidimensional), lo que evidencia diferentes comportamientos que se relacionan con la actividad biológica de los tratamientos.

A pesar del comportamiento observado, el Permanova evidenció la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al testigo testigo ( $p = 0,8$ ) al comparar el total de plaguicidas detectados en conjunto. Cabe mencionar que, el vector

sobrepuesto sobre el PCO indica que son las concentraciones de metalaxil, flutolanil, clorpirifos y DDE las que influyen marcadamente la separación de los puntos (subparcelas) en el espacio multidimensional, lo que puede sugerir mayores efectos de la actividad biológica sobre estos plaguicidas (ver la Figura 17).

### Figura 17

*Análisis de coordenadas principales de la presencia de residuos de plaguicidas presentes posteriormente a la aplicación de tratamientos de biorremediación de suelos. T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.*



Tomado de: *Elaboración propia*

A continuación, se analizan algunos ejemplos de lo observado.

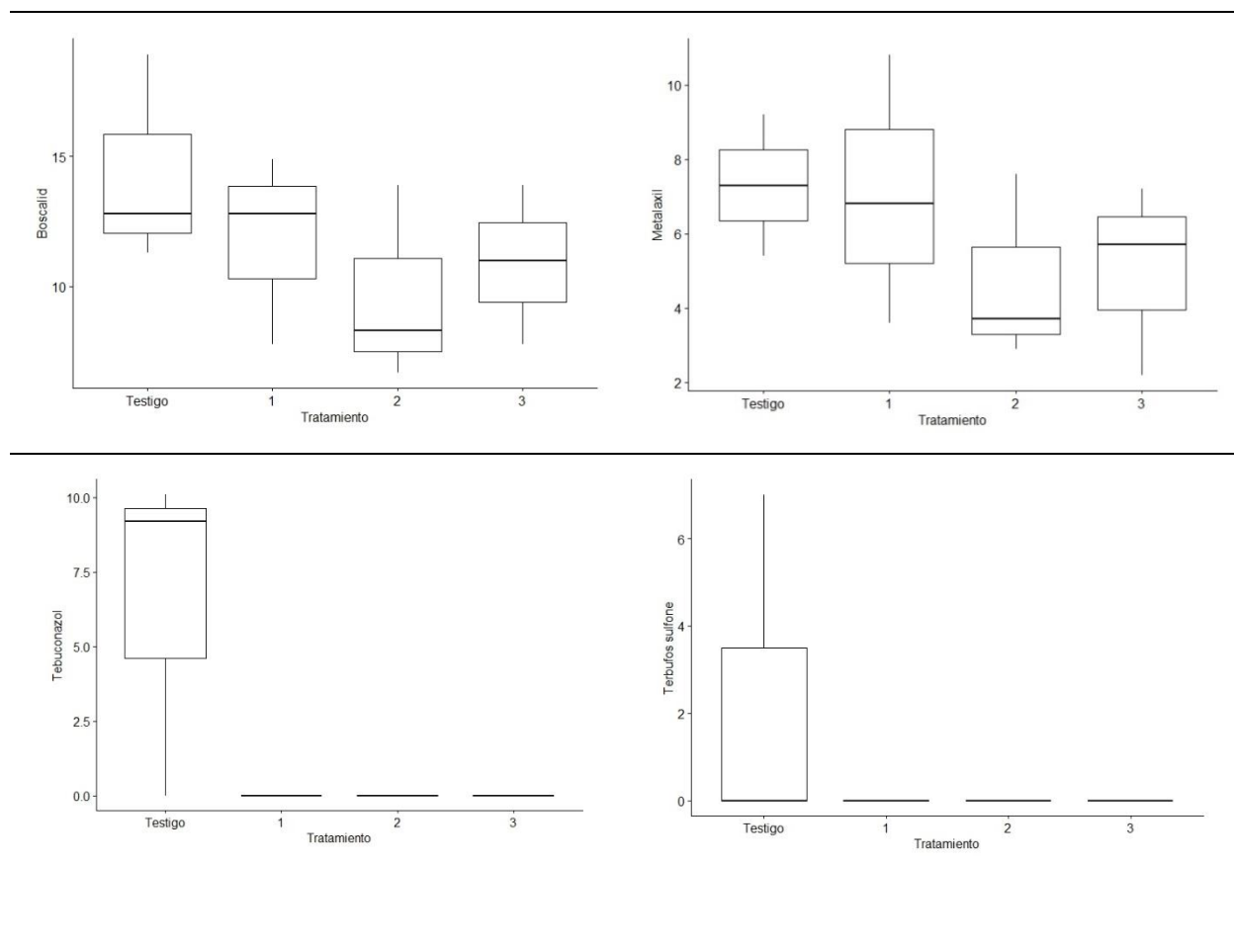
### ***Plaguicidas cuya concentración disminuyó en los tratamientos de biorremediación***

Las concentraciones de los plaguicidas boscalid, metalaxil, terbufos sulfone y tebuconazol presentan un decremento en sus concentraciones en los suelos aplicados con los tratamientos de biorremediación en comparación con el testigo (ver la Figura 18). El tratamiento donde se observó la menor disminución de plaguicidas (en comparación con el tratamiento testigo) fue el número uno, que contempla únicamente la siembra de vainica. Es decir, se aprovecha la estimulación de la actividad microbiana por parte de la planta mediante exudados

liberados al suelo. Por lo tanto, se puede presentar en alguna medida el fenómeno de rizorremediación, no obstante, este proceso no necesariamente implica otros fenómenos como la absorción de contaminantes (Reynolds *et al.*, 1999).

### Figura 18

*Plaguicidas cuya concentración decreció en suelos aplicados con tratamientos de biorremediación comparados con subparcelas testigo (ng/g de suelo). T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.*



Tomado de: *Elaboración propia*

Se demuestra que la interacción entre leguminosas y bacterias fijadoras de nitrógeno promueve el crecimiento de las plantas, la producción de exudados y el aumento de la biomasa microbiana en el suelo (Anderson *et al.*, 1993). Por otra parte, se sabe que la asociación entre

leguminosas y bacterias de la rizosfera mejoran notablemente los procesos de remediación y que la estimulación de las bacterias del suelo promueve la rizodegradación de contaminantes en lugar de bioacumularlos (Arshad *et al.*, 2017; Hall *et al.*, 2011).

El tratamiento 2, que consistió en la siembra de vainica combinado con la aplicación del producto comercial a base de microorganismos heterótrofos, fue donde se registró la mayor disminución de boscalid y metalaxil (ver la Figura 18) en comparación con las subparcelas testigo. Además, en este tratamiento se registró la ausencia de tebuconazol y terbufos sulfone, contrario a lo observado en el testigo, donde se detectaron ambos plaguicidas (ver la Figura 18).

Es posible que a pesar de que los microorganismos heterótrofos estuvieran en bajas concentraciones en el producto (menos de 100 UFC/ml), estos lograran realizar la degradación parcial de los plaguicidas presentes. Se sabe que los consorcios microbianos poseen un mejor efecto de degradación en comparación con los cultivos de organismos individuales (Zhang y Zhang, 2022).

Las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* (Verma *et al.*, 2014; Upadhyay *et al.*, 2017) y hongos como *Aspergillus* (Maya *et al.*, 2012) son microorganismos comúnmente encontrados en suelo cuya capacidad para degradar plaguicidas ha sido comprobada. En específico, *Pseudomonas* sp. y *Aspergillus niger* degradan un amplio espectro de plaguicidas, incluido el metalaxil (Massoud *et al.*, 2007). Además, se determinó que productos a base de *Bacillus* spp. han generado una disminución mayor al 50 % de valores residuales del plaguicida boscalid en suelos (Podbielska *et al.*, 2018).

Por otra parte, plaguicidas como tebuconazole y terbufos sulfone son más eficientemente degradados por hongos en comparación con bacterias (Podbielska *et al.*, 2023; Bumpus *et al.*,

1993). Las disminuciones en las concentraciones de tebuconazole y terbufos sulfone en el tratamiento 1 y 3 sugieren que existen en el suelo microorganismos que se adaptan para degradar estos compuestos.

Por otro lado, también existe la posibilidad de la presencia de metabolitos en el producto comercial. Estas sustancias pudieron haber estimulado las poblaciones nativas de microorganismos que, a la vez, tuvieron un efecto sobre la eliminación de los plaguicidas. Es conocido que los surfactantes pueden modificar la solubilidad aparente de los plaguicidas impidiendo la adsorción de estos al suelo (Katagi, 2008).

Además, se ha encontrado que organismos como *P. aeruginosa* poseen la capacidad de producir biosurfactantes reconocidos en el ámbito industrial (Ugaz *et al.*, 2020), los cuales pueden liberarse al medio. Es posible que la presencia de biosurfactantes en el producto comercial pudiera solubilizar los plaguicidas (boscalid, metalaxil, tebuconazole, terbufos sulfone), disponibilizándolos y aumentando su tasa de degradación en el tratamiento 2 en comparación con los demás tratamientos.

Otro aspecto por considerar son las interacciones de los microorganismos heterótrofos presentes en el producto comercial con los nativos en la rizosfera para potenciar la degradación de plaguicidas. Se demuestra que los microorganismos autóctonos expuestos a plaguicidas pueden desarrollar resistencia a estos e incluso utilizar los plaguicidas como fuente de energía o carbono a través de procesos de descomposición (Verma *et al.*, 2014). Es conocido que la mineralización y el co-metabolismo de los microorganismos son las principales vías de degradación de plaguicidas y sus metabolitos utilizados por los microorganismos (Ye *et al.*, 2018; Boivin *et al.*, 2005; Arora *et al.*, 2012).

La premisa parte de que las bacterias poseen una fuerte capacidad de adaptabilidad (Huang *et al.*, 2018). Por lo tanto, resulta lógico pensar que los suelos que son tratados con plaguicidas tienen una gran gama de microorganismos autóctonos con capacidad de degradación de plaguicidas. Lo anterior sumado a la asociación con la vainica y la inoculación de microorganismos exógenos pudo haber promovido un aumento en la tasa de degradación de contaminantes en comparación con las parcelas testigo.

El suelo aplicado con el tratamiento número 3, que consistió en la siembra de vainica más la aplicación de un producto comercial compuesto por microalgas y cianobacterias (organismos autótrofos), también mostró concentraciones de metalaxil, boscalid, terbufos sulfone y tebuconazol con tendencia a disminuir con respecto a las subparcelas testigo (ver la Figura 18). No obstante, en el caso del metalaxil y el boscalid la eficiencia fue menor en comparación con el tratamiento 2.

Las algas pueden ejecutar procesos de bioabsorción y bioadsorción en la detoxificación de contaminantes (Fomina y Gadd, 2014). Además, se demuestra que las microalgas poseen el potencial de degradar compuestos orgánicos e inorgánicos, para esto, utilizan los plaguicidas y otros compuestos como fuentes de nitrógeno y carbono y transforman los contaminantes en moléculas más simples mediante metabolización (Sutherland y Ralph, 2019). Además, se demuestra que las microalgas pueden poseer un complejo sistema enzimático con la capacidad de degradar contaminantes, las enzimas pueden utilizar directamente los compuestos tóxicos, degradándolos y también pueden participar enzimas involucradas en mecanismos de respuesta al estrés celular (Vingiani *et al.*, 2019).

Sin embargo, se encontró en la literatura que el uso de microalgas no tiene resultados significativos en la biodegradación del metalaxil (Ardal, 2014) y que el boscalid tiene efectos

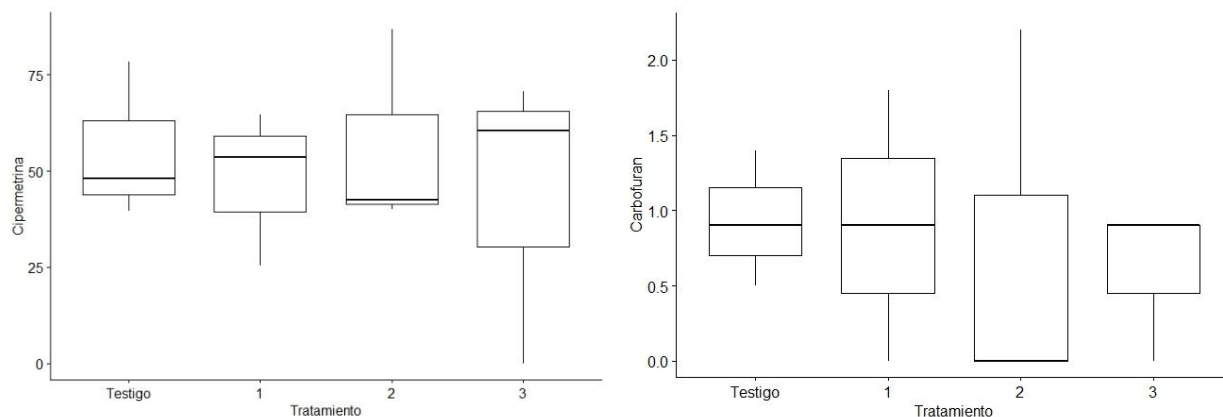
tóxicos en el alga *Chlorella vulgaris* (Qian *et al.*, 2018), mientras que tebuconazole es tóxico para las algas *Westiellopsis prolifica* y *Pseudokirchneriella supcapitata* (Kumar *et al.*, 2010; Ochoa-Acuña *et al.*, 2009). Ambos plaguicidas afectan los procesos de crecimiento y fotosíntesis de estos organismos. Debido a que la concentración de plaguicidas fue menor en el tratamiento vainica + organismos autótrofos en comparación con el tratamiento número uno, sembrado únicamente con vainica, la evidencia observada indica una disminución de plaguicidas como boscalid y metalaxil en las parcelas inoculadas con el producto comercial (a base de microorganismos autótrofos) lo que permite hipotetizar que la presencia de las microalgas y heterocistos de cianobacterias tuvieron un efecto en la degradación de plaguicidas. Este efecto puede ser indirecto, mediante la fijación de carbono y nitrógeno, que puede incrementar la biomasa de microorganismos autóctonos, capaces de degradar plaguicidas (Pathak *et al.*, 2018). Por otro lado, es posible sugerir que en el tratamiento 3, la degradación de plaguicidas respondió a una combinación de rizorremediación (dado por un efecto de las raíces de la vainica) y ficorremediación (por acción de las algas o cianobacterias) (Touliabah *et al.*, 2022); no obstante, para ratificar el efecto del producto a base de microorganismos autótrofos se deberá evaluar la persistencia de los microorganismos a lo largo del proceso experimental.

### ***Plaguicidas cuya concentración no presentó cambios***

Los plaguicidas cuya concentración permaneció sin variar en las subparcelas donde se aplicaron tratamientos de biorremediación comparado con las subparcelas testigo fueron cipermetrina y carbofuran (ver la Figura 19).

**Figura 19**

Plaguicidas cuya concentración fue similar en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación en comparación con subparcelas testigo (ng/g de suelo). T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.



Tomado de: Elaboración propia

Se conoce que la capacidad de degradación de los microorganismos se encuentra limitada por el tamaño y el peso molecular del compuesto. Por otra parte, se sabe que los compuestos orgánicos hidrofóbicos como la cipermetrina (ver el Cuadro 6 y el Cuadro 7) poseen importantes interacciones con la fracción coloidal del suelo, lo que reduce significativamente su disponibilidad para la degradación (Chikere *et al.*, 2011).

Otro factor que puede vincularse a la resistencia de la cipermetrina a la biodegradación es su alta concentración comparada con otros plaguicidas (ver el Cuadro 8). Se demuestra que la concentración de cipermetrina puede afectar el proceso de biodegradación, en general, cuanto mayor sea la concentración menor es la tasa de degradación (Cycon y Piotrowska, 2016).

En relación con el carbofuran, algunos estudios han demostrado que bacterias y hongos como *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. y *Aspergillus niger*, poseen la capacidad de degradación de este compuesto (Mishra *et al.*, 2020). Además, se observó que suelos con tratamientos previos de

carbofuran han demostrado tener una mejor tasa de degradación de este plaguicida por la resistencia desarrollada por los microorganismos autóctonos (Harris *et al.*, 2008).

Por otra parte, Shelton y Parkin (1991) encontraron que suelos con buena humedad mejoran considerablemente las condiciones para los microorganismos y la biodisponibilidad del carbofuran. Con base en lo anterior y al asumir que el suelo de la parcela experimental posee condiciones favorables (disponibilidad de arcillas, buenas condiciones de humedad, porcentaje de materia orgánica), se esperaría que disminuya la concentración de carbofuran en las subparcelas aplicadas con los tratamientos de biorremediación en comparación con las subparcelas testigo. Adicionalmente, el carbofuran presenta un bajo coeficiente de partición octanol/agua y una estructura molecular más pequeña (en comparación con la cipermetrina; ver el Cuadro 7), lo que refuerza la hipótesis de que existen condiciones favorables para la remoción de dicho plaguicida, lo que no se observó.

El carbofuran es un plaguicida que fue prohibido en Costa Rica desde el 2014 mediante el Decreto Ejecutivo n.º 38713-MAG-S-Minae-MTSS. Esto en especial por su persistencia y alta toxicidad a organismos no objetivo, por ende, encontrarlo en las muestras del suelo durante las fechas de muestreo (2021) es un reflejo de su persistencia. Se sabe que el pH ácido ayuda mantener la molécula de carbofuran relativamente estable (Moreno, 2009), por lo que, debido a que los suelos del área de análisis son ácidos, este es un factor que puede colaborar en la persistencia de la molécula en el suelo, lo que justificaría el comportamiento observado en el análisis.

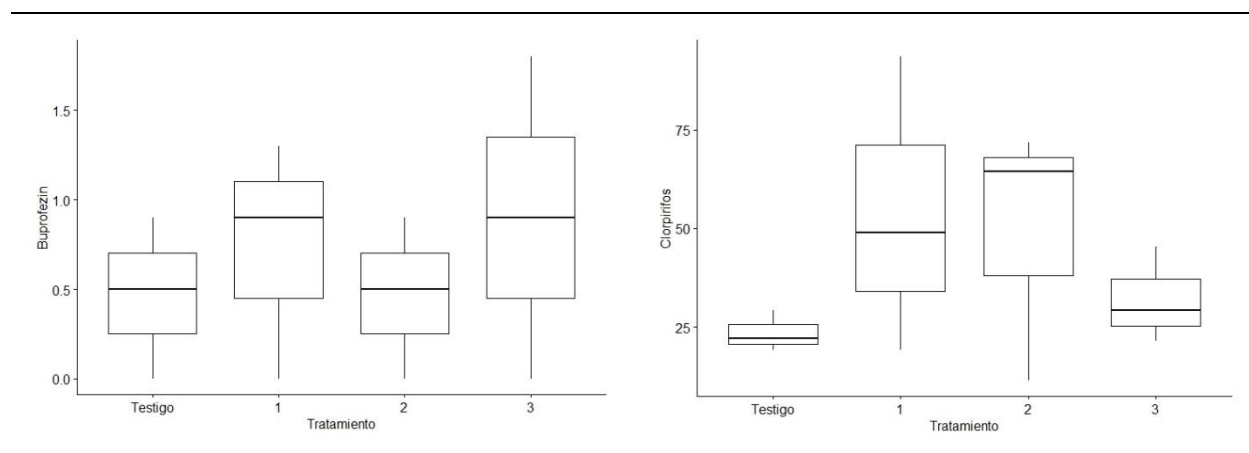
### *Plaguicidas cuya concentración aumentó en los tratamientos de biorremediación*

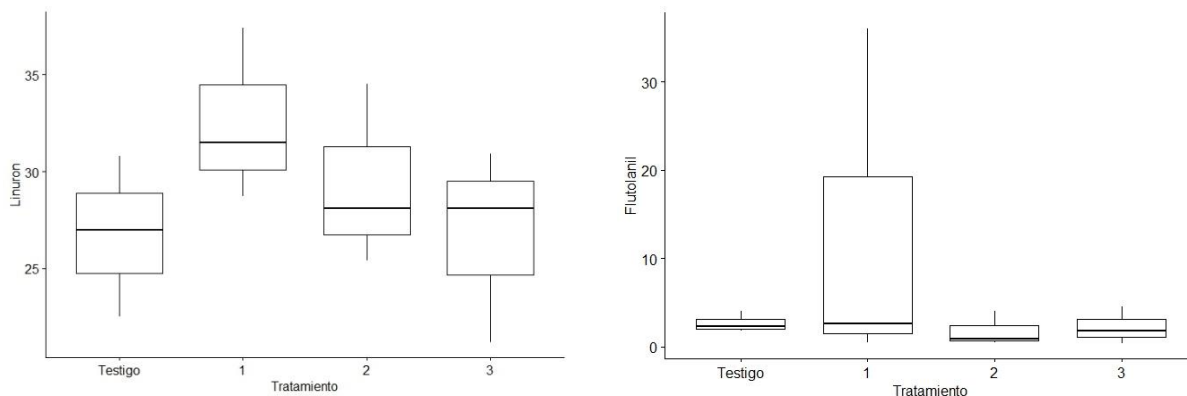
Finalmente, algunos plaguicidas cuyas concentraciones se incrementaron en las subparcelas aplicadas con los tratamientos de biorremediación en comparación con las subparcelas testigo fueron buprofezin, flutolanil, clorpirifos y linuron (ver la Figura 20).

Inicialmente, se planteó la posibilidad de que el aumento de la concentración de estos residuos de plaguicidas se debiera a la deriva de plaguicidas aplicados a cultivos ubicados en los alrededores del área experimental. Sin embargo, esta probabilidad fue descartada debido a que no se observó el mismo comportamiento en las parcelas testigo como sí se presentó en el resto de los tratamientos aplicados.

#### **Figura 20**

*Plaguicidas cuya concentración aumentó en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación en comparación con subparcelas testigo (ng/g suelo). T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.*





Tomado de: *Elaboración propia*

También, se pensó que el incremento observado de los plaguicidas pudo haberse debido al arrastre por escorrentía desde otras parcelas, producto de la precipitación, la cual fue alta mientras se ejecutó el ensayo (ver la Figura 7). Esto se debe a que los cuatro plaguicidas presentan baja solubilidad en agua (ver el Cuadro 6). Bajo la premisa anterior, este fenómeno sucedería principalmente por arrastre sedimentario desde zonas de mayor altitud, lo cual se acentúa por la pendiente pronunciada del sitio experimental (ver la Figura 6). No obstante, esta hipótesis fue descartada porque no se observó este comportamiento con todos los plaguicidas, sobre todo en aquellas subparcelas localizadas en la parte baja de la pendiente (ver la Figura 6).

Además, se plantea un efecto de la caracterización franco-arenosa del suelo, lo cual puede tener implicaciones en el muestreo. Se conoce que, en estudios de suelo, usualmente la mayor fuente de variación está vinculada con el muestreo (EPA, 1990). Por ejemplo, por diferencias en la profundidad del muestreo o contaminación cruzada entre los puntos de muestreo.

Otra posible explicación del incremento de la concentración de los plaguicidas citados es que ciertas bacterias, entre ellas, actinomicetes, hongos como *Aspergillus* y microalgas como *Scenedesmus obliquus* poseen capacidades de bioacumular y concentrar compuestos

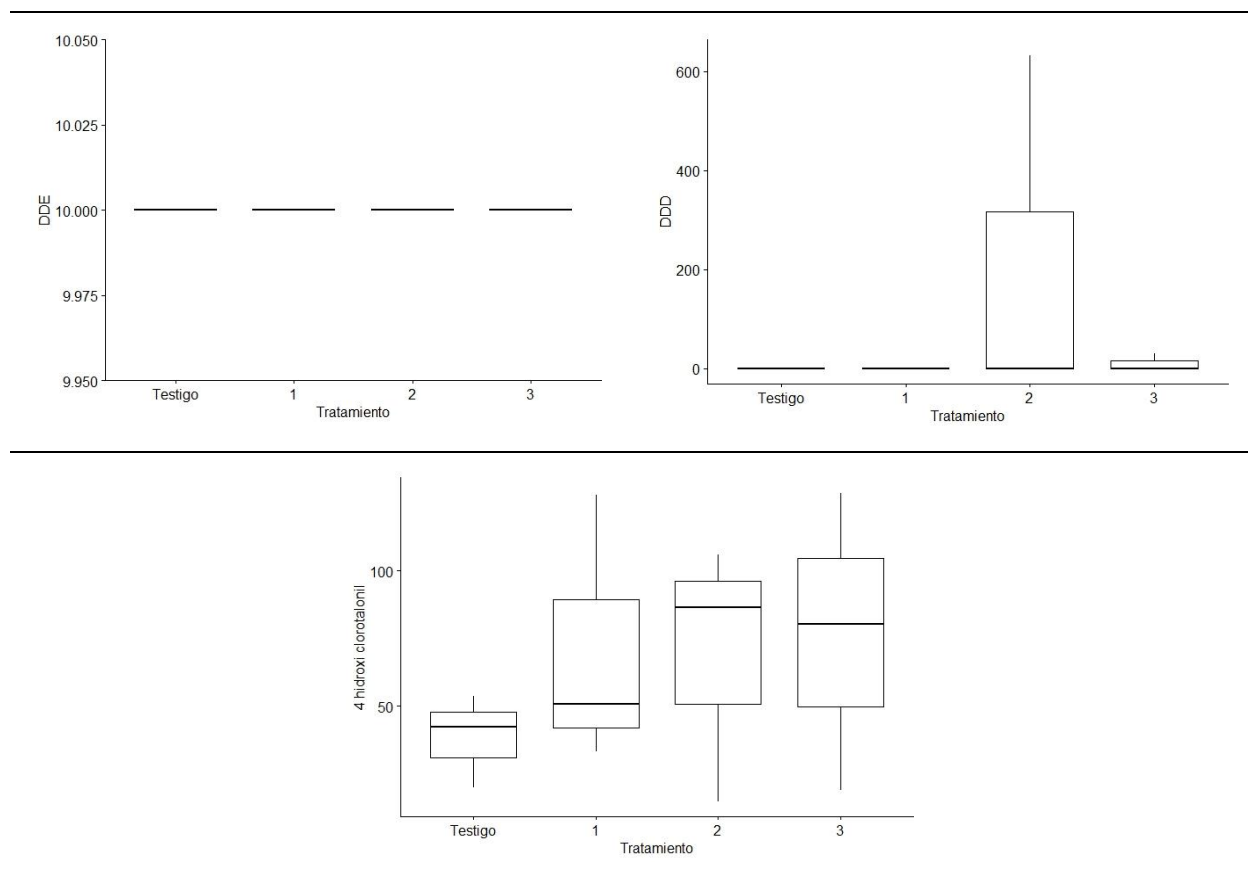
organoclorados como dieldrin, diclorofeniltricloroetano (DDT) y pentacloronitrobenceno (Grimes y Morrison, 1975; Ko y Lockwood, 1968; Wesley *et al.*, 1969). Si se considera que parte de los compuestos que presentaron este fenómeno de aumento en la concentración son organoclorados, es posible hipotetizar que los tratamientos aplicados promuevan mecanismos de bioacumulación de plaguicidas que pueden no haber estado biodisponibles antes de la aplicación de los productos biológicos.

### ***Presencia de metabolitos en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación***

Se detectó la presencia de tres metabolitos en el muestreo inicial y final, los cuales corresponden específicamente a diclorofenildicloroetileno (DDE), diclorofenildicloroetano (DDD) y 4-hidroxi clorotalonil. Los primeros dos son metabolitos de degradación del diclorofeniltricloroetano (DDT) y el segundo de clorotalonil. El comportamiento de los metabolitos fue variable en las subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación (ver la Figura 21). En el caso del DDE no presentó variaciones entre los tratamientos y el testigo, el DDD mostró una alta presencia en las parcelas de tratamiento 2 y poca presencia en las parcelas del tratamiento tres y el 4-hidroxi clorotalonil mostró un aumento en todos los tratamientos en comparación con las parcelas testigo.

**Figura 21**

*Metabolitos presentes en subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación (ng/g de suelo) T = Testigo, T1 = Vainica, T2 = Vainica + producto a base de microorganismos heterótrofos, T3 = Vainica + producto a base de microorganismos autótrofos.*



*Tomado de: Elaboración propia*

El DDT es un insecticida cuya comercialización y uso fue prohibido en Costa Rica a finales de la década de los 80 (Rojas, 2016) debido a su alta persistencia y efectos nocivos en la salud y el ambiente. El encontrar metabolitos de DDT refleja su alta persistencia ambiental y alta resistencia a la degradación microbiana (Pfaender y Alexander, 1973). En el caso del DDE el análisis cromatográfico reveló la presencia de trazas, es decir, cantidades pequeñas que no son susceptibles de ser cuantificadas con los equipos disponibles.

Por otra parte, los valores de DDD que se encontraron en las subparcelas de los tratamientos 2 y 3, están fuertemente influenciados por un único dato para cada subparcela en el

bloque 1 (ver el Anexo 11). A pesar de esto, los resultados concuerdan con lo encontrado en el ámbito regional, ya que el Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET, 2004) ha reportado mayor presencia del metabolito DDE en comparación con el DDD.

En cuanto a los mecanismos de descomposición del DDT, se sabe que el medio desempeña un papel importante en la presencia de microorganismos degradadores. En medios aerobios el DDE media como el principal resultado de descomposición, caso opuesto sucede con el DDD cuyo resultado se obtiene de procesos de degradación en condiciones anaerobias (Betancur *et al.*, 2013). Si se consideran las características del área experimental, debido a la alta precipitación y los suelos principalmente arenosos, es posible que ambas condiciones (aerobia y anaerobia) coexistan en el sitio.

Se ha reportado la capacidad degradadora de DDT por bacterias como *Micrococcus varians*, *Lactobacillus plantarum* y *Pseudomonas* sp (Betancur *et al.*, 2013), pero algunos estudios han revelado una mayor capacidad de degradación de DDT por parte de los hongos (Kantachoe *et al.*, 2001; Mitra *et al.*, 2001). El principal mecanismo de descomposición del DDT se relaciona directamente con la decloración de la molécula por eliminación de un ion cloruro. Los procesos que se denominan decloración reductiva (Wedemeyer, 1966) y deshidrocloración (Pan *et al.*, 2016) pueden estar mediados por procesos de co metabolización ejecutados por microorganismos y produciendo los metabolitos DDD y DDE.

Por otra parte, el 4-hidroxi clorotalonil, producto primario de la degradación del clorotalonil (Putnam *et al.*, 2003), puede ser producto de los mismos mecanismos de decloración microbiana involucrados en la degradación del DDT. En específico, la sustitución nucleofílica del ion cloruro por un grupo hidroxilo (Motonaga *et al.*, 1996). Algunos estudios realizados por Katayama *et al.* (1997) han demostrado la eficacia de más de 35 cepas bacterianas de grupos

taxonómicos distintos para degradar clorotalonil mediante sustitución del ion cloruro por grupos hidroxilo, de estos grupos destacan principalmente *Pseudomonas* y *Bacillus*.

Se demuestran mejores resultados en la degradación de clorotalonil mediante enfoques de bioaumentación comparados con la atenuación natural ejecutada por microorganismos autóctonos (Betancourt *et al.*, 2018). Si se consideran los resultados que se observaron en la Figura 21, una mayor presencia de 4-hidroxi clorotalonil en las subparcelas aplicadas con tratamientos de biorremediación en contraste con testigos puede vincularse al efecto generado por los tratamientos aplicados. Esto concordaría con los resultados que se observaron para boscalid y metalaxil (ver la Figura 18).

Si se considera la presencia de biodegradación, al menos en grado mínimo en todas las parcelas tratadas, se puede estimar que un importante agente involucrado en el proceso de biorremediación corresponde a las fuentes de carbono y energía depositadas en el suelo por la vainica (por ejemplo, exudados radicales) y las microalgas (fijación de carbono y nitrógeno). Si los microorganismos presentes en los procesos de biorremediación dependen de estas fuentes para degradar compuestos orgánicos como los plaguicidas, puede pensarse que el principal mecanismo de degradación que utilizan los microorganismos autóctonos e inoculados por tratamiento corresponde a la cometabolización de los compuestos.

### **Propuesta de biorremediación de suelos**

El tratamiento de biorremediación en el cual se evidenciaron mejores resultados fue la siembra de vainica en combinación con el producto comercial a base de microorganismos heterótrofos. En el suelo aplicado con este tratamiento se evidenció disminución de los

plaguicidas boscalid, metalaxil, tebuconazole y terbufos sulfone, pero no de los plaguicidas cipermetrina, carbofuran, buprofezin, clorpirifos, linuron y flutolanil.

A pesar de que el tratamiento de vainica + microorganismos heterótrofos tuvo el mejor desempeño de los tres tratamientos aplicados, los resultados de la evaluación de los productos no arrojaron resultados contundentes que permitan recomendar con total seguridad la aplicación de este tratamiento como estrategia de biorremediación. Sin embargo, se hipotetiza que este tratamiento mejoró las condiciones del suelo promoviendo mecanismos de degradación por parte de los microorganismos autóctonos. Desde una perspectiva de manejo integral del suelo para regenerarlo, además de una estrategia de biorremediación propiamente, el suelo debe ser objeto de una serie de prácticas, por lo que a continuación se sugieren algunas recomendaciones de manejo, sobre todo, para mejorar las condiciones ambientales para la proliferación y mantenimiento de comunidades autóctonas de microorganismos que contribuyan a la eliminación de contaminantes.

### ***Labranza del suelo***

Se sabe que la labranza convencional afecta la estructura del suelo, genera condiciones desfavorables para la descomposición de la materia orgánica y afecta de manera significativa la tasa de retorno de carbono (Paustian *et al.*, 1997). Estos factores no solo alteran negativamente la captura de carbono en el suelo, sino también los procesos de degradación de compuestos orgánicos como los plaguicidas.

En contraparte, la *labranza de conservación* consiste en conservar al menos un 30 % de los residuos de cosecha en el suelo posterior al periodo de cultivo (Báez y Aguirre, 2011). Para esto, los restos de los cultivos que han cumplido su ciclo se dejan sobre la tierra de cultivo para

protegerla contra la erosión y la pérdida de humedad. Además, se demuestra que este tipo de labranza mejora las condiciones fisicoquímicas del suelo, aumenta la masa microbiana y mejora la captura de carbono (FAO, 2002).

Al considerar las características del área evaluada, la presencia de suelos principalmente arenosos, la pendiente por lo general pronunciada, el alto índice de precipitación y la presencia de plaguicidas y metabolitos altamente peligrosos, la labranza de conservación puede tener un impacto positivo en el aumento de microorganismos degradadores y la retención de plaguicidas y sus metabolitos. Lo anterior evita su movimiento a cuerpos de agua subterránea y superficial, fenómeno que ya ha sido observado por Ramírez *et al.* (2017) en la zona de Zarcero.

### **Figura 22**

*Sistema de labranza de conservación - labranza cero*



*Tomado de: Portal Agrícola (2018).*

### ***Rotación de cultivos***

En la zona de Zarcero predomina la producción de hortalizas de ciclo corto (3 a 5 meses), lo que permite realizar rotación de cultivos. Dicha práctica tiene efectos positivos en el manejo

eficiente de plagas y enfermedades (Jalli *et al.*, 2021), lo que ayuda a disminuir el uso de plaguicidas. Esta práctica, además, mejora las condiciones del suelo y el ciclado de nutrientes.

Se aconseja incluir esta práctica en el modelo de producción al considerar las características de la zona, para esto, el productor debe analizar la emergencia de enfermedades y patógenos durante el periodo anual y establecer una programación de cultivos que permita disrumpir la aparición de enfermedades. Asimismo, se sugiere utilizar cultivos de diferentes familias y con diferente densidad de follaje, ya que se sabe que cultivos con follaje denso pueden tener un impacto positivo para disminuir la erosión (Huerta *et al.*, 2018), así como en el control de malezas por la limitación en la entrada de luz (ver la Figura 23).

En adición, se insta a incluir dentro del modelo de rotación el cultivo de alguna leguminosa por su capacidad para formar asociaciones con bacterias fijadores de nitrógeno, lo cual mejora su fertilidad. Además, el cultivo denso de leguminosas ha resultado ser altamente competitivo contra las malezas (Mohler y Johnson, 2009).

### **Figura 23**

*Sistema de rotación de cultivo y cultivo mixto*



*Tomado de: Rocalba (2020).*

### ***Barreras o cercas vivas***

El uso de barreras vivas demuestra proteger las zonas de cultivo de la escorrentía, factor que favorece conservar los suelos ante el efecto de erosión. Por otra parte, se demuestra que esta estrategia mejora significativamente la capacidad de retención de carbono orgánico del suelo (Kang *et al.*, 1999). Por lo tanto, se sugiere que la disposición de barreras vivas se diseñe tomando en cuenta la pendiente (ver la Figura 24) y con el uso de especies arbustivas, en especial leguminosa como *Cratylia argentea* o *Leucaena leucocephala*.

**Figura 24**  
*Barreras vivas en sistema agrícola*



Tomado de: Basnet (2020).

## Divulgación de resultados

Los resultados obtenidos fueron socializados en campo con el productor José López (ver figura 25), dueño de la finca del área de estudio, para esto se preparó una carpeta con los resultados fisicoquímicos, biológicos y presencia de plaguicidas del área de estudio, además se explicó ampliamente los aspectos discutidos en el apartado de discusión de este documento, y se indicaron las recomendaciones de la propuesta de biorremediación. Así mismo, se realizó un taller virtual (ver figura 26) en el que se contó con la participación de 8 productores hortícolas del cantón de Zarceró, en este taller se compartieron los resultados obtenidos de esta investigación y los productores pudieron comunicar algunas de sus experiencias positivas sobre como el uso de fertilizantes de microorganismos mejoraron el rendimiento de los cultivos, y como el uso de enmiendas a base de microorganismos de montaña mejoraron notablemente los suelos viéndose reflejado en la estructura de las plantas .

### Figura 25

*Divulgación de resultados a José López*



*Tomado de: Fotografía propia*

**Figura 26**

*Divulgación de resultados a productores Zarcereños*

## Charla - Taller

Presentación de resultados

“Técnicas de biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas”

Estudio de caso de una finca en Zarcero

**Presentado por:** Gabriel Brenes

Fecha: martes 01 de Agosto

Hora: 06:00 p.m.



Presentado vía Zoom



*Tomado de: Fotografía de Martha Orozco Aceves, 2023*

## Capítulo V. Conclusiones y recomendaciones

### Conclusiones

En el presente trabajo se evaluó la eficacia de tres tratamientos de biorremediación en una finca hortícola en la zona de Zarcero. Las condiciones climatológicas de la zona indican que el área posee un considerable índice de precipitación anual y temperaturas generalmente templadas. Por otra parte, el suelo demuestra ser principalmente arenoso y con un pH relativamente ácido.

En campo se han detectado condiciones de temperatura y humedad que pueden ser favorables para el desarrollo microbiano. Estos factores pueden mejorar las tasas de biodegradación, por otra parte, el pH también afecta el crecimiento microbiano y en algunos casos particulares, la presencia de plaguicidas como el carbofuran, puede aumentar la estabilidad de la molécula, lo que dificulta su descomposición.

Además, se observaron cantidades de biomasa microbiana y nematodos significativamente bajas en toda el área experimental. Este aspecto podría estar relacionado con el modelo productivo tradicionalmente aplicado en la finca (convencional) y se puede vincular a tasas de degradación reducidas como se pudo observar en los resultados de la caracterización del suelo de la parcela experimental.

En cuanto a los resultados de la aplicación de los tratamientos de biorremediación, no se evidenciaron diferencias significativas con respecto a los controles, pero se observó la disminución de las concentraciones de algunos de los plaguicidas presentes como metalaxil, boscalid, tebuconazole y terbufos sulfone. Los resultados de los tratamientos número uno (vainica) y tres (vainica + microorganismos autótrofos) sugieren la presencia de comunidades microbianas presentes en el suelo (autóctonas) que, en presencia de fuentes de energía

facilitadas por la leguminosa y la inoculación de microalgas y cianobacterias, podrían aumentar su capacidad para degradar plaguicidas.

Asimismo, se detectaron metabolitos de moléculas como el clorotalonil y el diclorofenil tricloroetano (DDT). Esto sugiere que antes del desarrollo experimental ya existían en el suelo complejos microbianos con la capacidad de degradar compuestos organoclorados mediante dechloración, un mecanismo que se demuestra está mediado por co metabolización.

Los resultados sugieren que una estrategia de biorremediación debe ser integral, considerando aspectos biológicos, físico-químicos, climatológicos del entorno y manejo agronómico de suelo. La evidencia indica que una estrategia de biorremediación de suelos contaminados con un conjunto de plaguicidas de naturaleza química diversa, requiere de una diversidad de acciones enzimáticas, dadas por una variedad de microorganismos diferentes. Por otro lado, es posible que la acción enzimática de los microorganismos influya en procesos de desorción que incrementen las concentraciones de algunos plaguicidas en el suelo, como fue observado para buprofezin, clorpirifos, linuron y flutolanil en este proceso experimental.

La cuantificación de microorganismos indicó que las concentraciones de microorganismos en una de los productos evaluados no coincidió con lo declarado en la etiqueta del mismo. Considerando el auge que está tomando el país en el desarrollo de productos biológicos, se sugiere establecer estrategias de monitoreo y evaluación de la calidad de los mismos para comprobar su efectividad.

Para esto, se plantea la hipótesis de que los microorganismos presentes en el suelo y el producto del tratamiento 2 utilizaron nitrógeno y carbono disponibles de las fuentes facilitadas por la leguminosa, como principales fuentes de energía y procesaron los contaminantes mediante

vías enzimáticas secundarias. Por lo tanto, el sistema de biorremediación por utilizar en el área de estudio debe poseer fuentes de energía externas.

A partir de lo anterior se entregó al productor un informe físico con los resultados de los análisis realizados y la propuesta de biorremediación desarrollada en este documento. Además, se socializaron los resultados a otros productores de la zona de Zarcero mediante una charla-taller en línea a través de la plataforma Zoom en la que se contó con la participación de 6 productores quienes compartieron vivencias y mostraron especial interés en el papel de los microorganismos en los procesos de biorremediación.

### **Recomendaciones**

Entre las principales recomendaciones para mejorar el modelo experimental y el análisis de resultados se sugieren los siguientes tópicos:

- Analizar el efecto de otros tipos de biorremediación como la bioaumentación con microorganismos autóctonos ya que los productores han demostrado obtener resultados positivos con el uso y aplicación de bioles y enmiendas a base de microorganismos de montaña.
- Analizar con detalle la presencia de microorganismos en el suelo (autóctonos), para evaluar la posibilidad de efectos antagónicos o sinérgicos con los microorganismos de los productos comerciales.
- Aumentar el tiempo del desarrollo experimental. Por ejemplo, durante dos o tres ciclos de producción de vainica para confirmar los comportamientos de disminución de plaguicidas observados en este trabajo.

- Ejecutar más unidades experimentales en un área mayor para aumentar el número de muestreos para una mejor validación de los tratamientos estudiados.
- Verificar si existe un aumento en la biomasa microbiana posterior al proceso experimental. Lo anterior para determinar si existen mejoras en las condiciones del suelo propiciadas por los tratamientos que promuevan el crecimiento de las comunidades existentes.
- Evaluar en profundidad los mecanismos de adsorción y desorción de plaguicidas del suelo del área experimental y su relación con la biodisponibilidad de contaminantes.
- Establecer un plan periódico de análisis y acompañamiento con el productor, con el objetivo de asegurar el mantenimiento de buenas prácticas agrícolas sugeridas en este documento y evaluar a largo plazo el efecto de estas estrategias en la reducción de la presencia de plaguicidas y el mejoramiento del suelo y la producción agrícola.
- Establecer estrategias para la cooperación entre productores agrícolas de la zona de Zarcero, y la comunicación dinámica de experiencias y modos de producción para socializar los resultados obtenidos con el uso de estrategias para la mejora de suelos y la disminución del consumo de plaguicidas.
- Vincular a los productores en programas de capacitación continua, talleres y visitas de campo enfocados en la reducción del uso de plaguicidas y la aplicación de metodologías como la biorremediación para la recuperación y mejora de suelos agrícolas.

### Referencias bibliográficas

- Abdul, N. S.; Abdul, N. W. y Nadarajah, K. (2021). Effects of Abiotic Stress on Soil Microbiome. *Int. J. Mol. Sci.* 22(16). <https://doi.org/10.3390/ijms22169036>
- Alfaro, R. (2013). *Herbicidas asociados a la caña de azúcar y su potencial de contaminación del medio ambiente*. Laica. Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (Dieca).
- Allen, M. (1968). Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae. *J. Gen. Microbiol.* 51: 199-202.
- Al-Smadi, B. M.; Al Oran, E. H. y Abu Hajar, H. A. (2019). Adsorption-desorption of cypermethrin and chlorfenapyr on Jordanian soils. *Arab J. Geosci* 12, 465. <https://doi.org/10.1007/s12517-019-4614-7>
- Anastassiades, M.; Lehotay, S. J.; Stajnbaher, D. y Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2): 412-431.
- Anderson, A. C. (1990). *Environmental toxicology—Biodegradation of xenobiotics*. *J. Environ. Health* 48: 196-199.
- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26:32-46.

- Anderson, M. J.; Gorley, R. N. y Clarke, K. R. (2008). PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. Institute of Information and Mathematical Sciences (IIMS) Massey University, Auckland.
- Anderson, T.; Guthrie, E. y Walton, B. (1993). Bioremediation in the rhizosphere. *Environmental Science y Technology*, 27(13), 2630-2636. doi:10.1021/es00049a001
- Ardal, E. (2014). *Phycoremediation of pesticides using microalgae*. Second cycle, A2E. Alnarp: SLU, Dept. of Biosystems and Technology (from 130101).
- Arora, P. K.; Sasikala, C.; Ramana, C. V. (2012). Degradación de compuestos nitroaromáticos clorados. *Aplicación Microbiol. Biotecnología*, 93: 2265-2277. DOI: 10.1007/s00253-012-3927-1
- Arshad, M.; Khan, A. H. A.; Hussain, I.; Anees, M.; Iqbal, M.; Soja, G.; Linde, C. y Yousaf, S. (2017). The reduction of chromium (VI) phytotoxicity and phytoavailability to wheat (*Triticum aestivum*, L.) using biochar and bacteria. *Appl. Soil Ecol.* 114, 90-98. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.02.021>
- Ayangbenro, A. S. y Babalola, O. O. (2017). A new strategy for heavy metal polluted environments: A review of microbial biosorbents. *Int. J. Environ. Res. Public Health*; 14:94. DOI: 10.3390/ijerph14010094
- Báez, M.; Aguirre, J. (2011). *Efecto de la labranza de conservación sobre las propiedades del suelo*. Terra Latinoamericana. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57321257001>

- Berrocal, S.; Calvo, J.; González, A.; Orozco, M.; Rojas, M.; Vargas, S. y Vida, M. (2021). *UNA Praxis agrícola, dialógica y ecosistémica*. Universidad en Diálogo. DOI.  
<http://dx.doi.org/10.15359/udre.11-1.9>
- Méndez, J.; Bertsch, F. (2012). Guía para la interpretación de la fertilidad de los suelos de Costa Rica. ISBN: 9789968942263
- Bertsch, F.; Mata, R. y Henríquez, C. (1993). *Características de los principales órdenes de suelos presentes en Costa Rica*. Centro de Investigaciones Agronómicas Universidad de Costa Rica. [http://www.mag.go.cr/congreso\\_agronomico\\_ix/A01-1277-15.pdf](http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_ix/A01-1277-15.pdf)
- Betancour, J.; Bautista, P.; Narváez, S. y Parra, J. (2018). Biodegradation of Chlorotalonil Fungicide in Coastal Areas of the Colombian Caribbean Suitable for Banana Crops. *Tecciencia*, 13(25). DOI. <http://dx.doi.org/10.18180/tecciencia.2018.25.3>
- Betancur, B.; Pino, N.; Peñuela, G. y Cardona, S. (2013). *Biorremediación de suelo contaminado con pesticidas: caso DDT*.  
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/33173>
- Bischoff, H. y Bold, H. (1963). Phycological Studies IV. Some Soil Algae From Enchanted Rock and Related Algal Specie. *University of Texas*, 6318: 1-95
- Boivin, A.; Amellal, S.; Schiavon, M. y Van Genuchten, M. T. (2005). 2, ácido 4-diclorofenoxiacético 2, sorción 4-D y dinámica de degradación en tres suelos agrícolas. *Reinar. contaminar*, 138:92-99. doi: 10.1016/j.envpol.2005.02.016.
- Bonilla, M.; Brenes, G.; Schweickart, S. y Soto, Y. (2022). *Evaluación de la exposición Ambiental del diuron y el clorpirifos en la producción de Capsicum annum y su*

*fitotoxicidad en Lactuca sativa*. (Artículo científico inédito). Universidad Nacional.  
Heredia, Costa Rica.

Brutti, L.; Beltrán, M. y García de Salamone, I. (2018). *Biorremediación de los recursos Naturales*. INTA.  
[https://inta.gob.ar/sites/default/files/libro\\_biorremediacion\\_de\\_los\\_recursos\\_naturales\\_1.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/libro_biorremediacion_de_los_recursos_naturales_1.pdf)

Bumpus, J. A.; Kakar, S. N. y Coleman, R. D. (1993). Fungal degradation of organophosphorus insecticides. *Appl Biochem Biotechnol. Spring*; 39-40:715-26. DOI: 10.1007/BF02919030. PMID: 7686734.

Burbano, H. (2016). El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Revista de ciencias agrícolas*, 33. <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.163302.58>

Castillo, B.; Ruiz, J.; Manrique, M. y Pozo, C. (2020). Contaminación por plaguicidas agrícolas en los campos de cultivos en Cañete (Perú). *Espacios*, 41(10), 11-22.  
<http://www.revistaespacios.com/a20v41n10/a20v41n10p11.pdf>

Castro, L. (1995). Efecto del uso agrícola y el barbecho sobre los contenidos de biomasa microbiana de Ultisoles y Andisoles de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 19(2):59-65.

Chikere, C. B.; Okpokwasili, G. C. y Chikere, B. O. (2011). Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil. *3 Biotech* 1, 117-138.  
<https://doi.org/10.1007/s13205-011-0014-8>

- Chin-Pampillo, J. S.; Carazo-Rojas, E.; Pérez-Rojas, G.; Castro-Gutiérrez, V. y Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2015). Accelerated biodegradation of selected nematicides in tropical crop soils from Costa Rica. *Environ Sci Pollut Res Int. Jan*; 22(2):1240-9. DOI: 10.1007/s11356-014-3414-6. Epub 2014 Aug 20. PMID: 25135169.
- Chowdbury, A.; Pradham, S.; Saha, M. y Sanyal, N. (2008). Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian, J. Microbiol*, 114-127.
- Cycoń, M., Mroziak, A., Piotrowska-Seget, Z. (2017). Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. *Chemosphere*, 172, 52-71.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.129>
- Cycoń, M., Piotrowska-Seget, Z. (2016). Pyrethroid-Degrading Microorganisms and Their Potential for the Bioremediation of Contaminated Soils: A Review. *Front Microbiol. Sep 15*; 7:1463. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01463. PMID: 27695449; PMCID: PMC5023672.
- Dalal, R. C. (1998). Soil microbial biomass—what do the numbers really mean? *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 38(7), 649. DOI:10.1071/EA97142
- Di Paola, M. M. y Vicién, C. (2010, 5 de octubre). *Biorremediación: vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación*. [Documento de trabajo ]. <http://www.ceur-conicet.gov.ar/archivos/publicaciones/Biorremediacion2.pdf>
- Duley, J. (2009). *Estudio de poblaciones de fitonemátodos, nematodos de vida libre, hongos endofíticos y su relación con propiedades físicas y químicas del suelo en el cultivo del plátano en Rivas - Nicaragua*. Tesis de grado. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.

- Edwards, C. (1975). Factors that affect the persistence of pesticides in plants and soils. *Pesticide Chemistry*, 39-56. DOI:10.1016/b978-0-408-70708-4.50007-7
- El Fantroussi, S. y Agathos, S. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*, 268-275.  
<https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.04.011>
- Environmental Protection Agency (EPA). (1990). *Assesment of Errors in Soil Sampling*.
- Espinoza, A.; Vaquerano Castro, B.; Torres, R. y Montiel, H. (2003). *Efectos de los plaguicidas en la salud y el ambiente en Costa Rica*. Organización Panamericana de la Salud.  
<https://www.bvs.sa.cr/php/situacion/plaguicidas.pdf>
- Fátima, M. (2012). *Manual de Biología de Suelos Tropicales*. Muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo del suelo. Instituto Nacional de Ecología.
- Ferrera Cerrato, R.; Rojas Avelizapa, N.; Poggi Alvarado, H.; Alarcón, A. y Cañizares Villanueva, R. O. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuesto orgánicos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2) 179-187. <https://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2006/mi062s.pdf>
- Fomina, M. y Gadd, G. M. (2014). Biosorption: Current Perspectives on Concept, Definition and Application. *Bioresour. Technol.*, 160, 3-14.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.102>

- Galán Huertos, E. y Romero Baena, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la Sociedad Española de Mineralogía*, 10, 48-60.  
[http://www.ehu.es/sem/macla\\_pdf/macla10/Macla10\\_48.pdf](http://www.ehu.es/sem/macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf)
- Gamarra Lezcano, C.; Díaz Lezcano, M.; Vera de Ortiz, M.; Galeano, M. y Cabrera Cardús, A. (2018). Relación carbono-nitrógeno en suelos de sistemas silvopastoriles del Chaco paraguayo. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 9(46), 4-26.  
<https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i46.134>
- Garbisu, C. y Alkorta, I. (2001). Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology*, 77:229-236.  
[https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00108-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00108-5)
- García Hernández, J.; Martínez Rodríguez, I. E.; Aldana Madrid, M. L.; Betancourt Lozano, M.; Leyva Morales, J. B.; Hernández Ochoa, M. I. y Perera Ríos, J. H. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 20-60. <http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2018.34.esp01.03>
- García, J. (1990). Residuos de plaguicidas en los alimentos: aspectos introductorios. *Tecnología en marcha*, 10(4) 37-41. [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/2625](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/2625)
- García, J. (1993). Los plaguicidas y el combate de plagas agrícolas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 8(1) 121-133. [http://www.mag.go.cr/rev\\_mesov08n01\\_120.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_mesov08n01_120.pdf)
- García, J. (1997). Consecuencias indeseables de los plaguicidas en el ambiente. *Agronomía mesoamericana*, 119-135.

- García, M. y Peralta, M. (2008). Co metabolismo en la degradación de hidrocarburos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-27382008000100001&script=sci\\_abstract](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-27382008000100001&script=sci_abstract)
- GFA Consulting Group, S. A. (2010). *Estudio del estado de la producción sostenible y propuesta de mecanismos permanentes para el fomento de la producción sostenible*.  
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/P01-0851.pdf>
- Ginocchio Cea, R. y León Lobos, P. (2011). *Fitoestabilización de Relaves en Chile*. CIMM-INIA.  
[https://www.researchgate.net/publication/336217768\\_Fitoestabilizacion\\_de\\_Depositos\\_de\\_Relaves\\_en\\_Chile](https://www.researchgate.net/publication/336217768_Fitoestabilizacion_de_Depositos_de_Relaves_en_Chile)
- Gliessman, S. R. (2002). *Agroecología Procesos Ecológicos en agricultura Sostenible*. Catie.  
<https://biowit.files.wordpress.com/2010/11/agroecologia-procesos-ecolc3b3gicos-en-agricultura-sostenible-stephen-r-gliessman.pdf>
- Gobierno de Chile. (2019). *Manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados*.  
Autor. [https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados\\_baja-1.pdf](https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados_baja-1.pdf)
- Godleads Omokhagbor, A.; Prekeyi Tawari, F.; Samson Eruke, O. y Igelenyah, E. (2015).  
Biorremediation, Bioestimulation and Bioaugmentation: A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1) 28-39.  
[https://www.researchgate.net/publication/277216237\\_Bioremediation\\_Biostimulation\\_and\\_Bioaugmentation\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/277216237_Bioremediation_Biostimulation_and_Bioaugmentation_A_Review)

- Gómez, D. C. (2011). Fitorremediación de suelos contaminados con plaguicidas. *Revista de Química de la Universidad Pablo de Olavide*, 4, 55-60.  
[https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero\\_4.pdf](https://www.upo.es/cms1/export/sites/upo/moleqla/documentos/Numero_4.pdf)
- González, L. (1981). *Introducción a la Fitopatología*. Universidad de Costa Rica, 1.<sup>a</sup> ed.
- Granados, M. (2018). *Identificación morfológica de hongos fitopatógenos*. Universidad de Costa Rica.  
[https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/79022/Manual\\_hongos\\_y\\_key\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/79022/Manual_hongos_y_key_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Grimes, D. y Morrison, M. (1975). *Bacterial bioconcentration of chlorinated hydrocarbon insecticides from aqueous systems*. 2(1), 43-59. DOI:10.1007/bf02010380
- Hall, J.; Soole, K. y Bentham, R. (2011). Hydrocarbon Phytoremediation in the Family Fabacea A Review. *International Journal of Phytoremediation*, 13(4), 317-332.  
DOI:10.1080/15226514.2010.495143
- Harris, C. R.; Chapman, R.; Harris, C. y Tu, C. (2008). Biodegradation of pesticides in soil: Rapid induction of carbamate degrading factors after carbofuran treatment. *Journal of Environmental Science and Health*, 19. <https://doi.org/10.1080/03601238409372410>
- Henderson, K. L., Belden, J. B., Zhao, S., Coats, J. R. (2006). Phytoremediation of pesticide wastes in soil. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61(3-4), 213-221.  
<https://doi.org/10.1515/znc-2006-3-410>

Henríquez, C.; Cabalceta, G.; Bertsch, F.; Alvarado, A. (2011). *InfoAgro Costa Rica*.

<http://www.infoagro.go.cr/Inforegiones/RegionCentralOriental/Documents/Suelos/tipos%20de%20suelos%20CR.pdf>

Huang, Y.; Xiao, L.; Li, F.; Xiao, M.; Lin, D.; Long, X. y Wu, Z. (2018). Microbial Degradation of Pesticide Residues and an Emphasis on the Degradation of Cypermethrin and 3-

phenoxy Benzoic Acid: A Review. *Molecules. Sep 11; 23(9):2313*. DOI:

10.3390/molecules23092313. PMID: 30208572; PMCID: PMC6225238.

Huerta, J.; Oropeza, J.; Guevara, R.; Ríos, D.; Barreto, O.; Olguín, J. y Mancilla, O. (2018).

*Effect of plant cover of four crops on soil erosion*. [http://dx.doi.org/10.4067/S0718-](http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292018005000701)

34292018005000701

Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. (2015). *Suelos de*

*Costa Rica Orden Andisol*. Departamento de Transferencia e Información Tecnológica-

INTA. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/Av-1828>. PDF

Instituto Nacional de investigación Agropecuaria Tacuarembó (20 de mayo de 2015). *Semana de la Ciencia y la Tecnología Jornada de Puertas Abiertas*.

[http://inia.uy/Documentos/P%C3%BAblicos/INIA%20Tacuaremb%C3%B3/2015/EI%20](http://inia.uy/Documentos/P%C3%BAblicos/INIA%20Tacuaremb%C3%B3/2015/EI%20Suelo%2020%20de%20mayo.pdf)

[Suelo%2020 %20de%20mayo.pdf](http://inia.uy/Documentos/P%C3%BAblicos/INIA%20Tacuaremb%C3%B3/2015/EI%20Suelo%2020%20de%20mayo.pdf)

Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas (IRET). (2004). *Human health effects of*

*persistent organic pollutants: Aldrin, dieldrin, endrin, chlordane, DDT, toxaphene,*

*mirex, heptachlor, hexachlorobenzene, polychlorinated biphenyls, and polychlorinated*

*dibenzofurans*. ISSN 1659-0937. Universidad Nacional.

- Jalli, M.; Huusela, E.; Jalli, H.; Kauppi, K.; Niemi, M.; Himanen, S. y Jauhiainen, L. (2021). *Effects of Crop Rotation on Spring Wheat Yield and Pest Occurrence in Different Tillage Systems: A Multi-Year Experiment in Finnish Growing Conditions*.  
<https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.647335>
- Kang, B.; Caveness, F.; Tian, G. *et al.* (1999). Longterm alley cropping with four hedgerow species on an Alfisol in southwestern Nigeria-effect on crop performance, soil chemical properties and nematode population. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 54, 145-155.  
<https://doi.org/10.1023/A:1009757830508>
- Kantachote, D.; Naidu, R.; Singleton, I.; McClure, N. y Harch, B. (2001). *Resistance of microbial populations in DDT-contaminated and uncontaminated soils*. 16(1), 0-90.  
 DOI:10.1016/s0929-1393(00)00058-5
- Katagi, T. (2008). Surfactant effects on environmental behavior of pesticides. *Rev. Environ Contam Toxicol*, 194:71-177. DOI: 10.1007/978-0-387-74816-0\_4. PMID: 18069647.
- Katayama, A.; Itou, T. y Ukai, T. (1996). *Ubiquitous Capability to Substitute Chlorine Atoms of Chlorotalonil in Bacteria*. *J. Pesticide Sci.* 22. 12-16.
- Kidd, P. y Proctor, J. (2001). *Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious?* *J. Exp. Bot.* 52, 791-799. 10.1093/jexbot/52.357.791
- Kirk, J.; Klironomos, J.; Lee, H. y Trevors, J. (2004). The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil. *Science Direct*, 133, 455-465.  
<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.469.9126&rep=rep1&type=pdf>

- Ko, W. H. y Lockwood, J. L. (1968). Accumulation and concentration of chlorinated hydrocarbon pesticides by microorganisms in soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 14(10), 1075-1078. DOI:10.1139/m68-181
- Kumar, N.; Bora, A. y Kaur Amb, M. (2010). Chronic toxicity of the triazole fungicide tebuconazole on a Heterocystous, Nitrogen-Fixing rice paddy field Cyanobacterium, *Westiellopsis prolifica* Janet. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. DOI: 10.4014/jmb.0907.07013
- Lara, R.; Castro, T.; Castro, G.; Castro, M. y Malpica, A. (2003). *La importancia de los nematodos de vida libre*. Departamento del Hombre y su Ambiente.
- Leahy, J. y Colwell, R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.* 54:305-315. DOI: 10.1128/mr.54.3.305-315.1990
- Ley n.º 7554. (1995, 13 de noviembre). *Ley Orgánica del Ambiente*.  
[https://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=27738&nValor3=93505&strTipM=TC](https://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=27738&nValor3=93505&strTipM=TC)
- Ley n.º 7779. (1998, 21 de mayo). *Ley para el Uso, Manejo y Conservación de Suelos*.  
[http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=26421&nValor3=93194&strTipM=TC](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=26421&nValor3=93194&strTipM=TC)
- López, E.; Cisneros, S. y Ochoa, J. (2016). Procesos de bioestimulación para la remediación de suelos agrícolas contaminados con tebuconazol y  $\lambda$ -cialotrina. *Revista de Simulación y laboratorio*, 3(8) 1-9.  
[https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Simulacion\\_y\\_Laboratorio/vol3num8/Revista\\_de\\_Simulacion\\_y\\_Laboratorio\\_V3\\_N8\\_1.pdf](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Simulacion_y_Laboratorio/vol3num8/Revista_de_Simulacion_y_Laboratorio_V3_N8_1.pdf)

MAG-Minae-S.-HACIENDA-MOPT. (2001, 21 de marzo). *Reglamento a la Ley de Uso, Manejo y Conservación de Suelos n.º 29375*.

[https://www.inta.go.cr/Normativa/Reglamento\\_Ley\\_Suelos.pdf](https://www.inta.go.cr/Normativa/Reglamento_Ley_Suelos.pdf)

Martínez, I. (2013). *Diagnóstico de poblaciones de fitonemátodos y nematodos de vida libre asociados al cultivo de plátano variedad Hartón enano (AAB) en tres fincas productoras de León y Telica, Nicaragua*. Tesis de grado. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN-LEÓN).

Basnet, K. (2020). *Flow Around Porous Barriers: Fundamental Flow Physics And Applications*.

DOI: 10.17077/etd.95iaw1lv. (Fotografía).

Masini, J. y Abate, G. (2021). *Guidelines to Study the adsorption of pesticides onto clay minerals aiming at a straightforward evaluation of their removal performance*.

<https://doi.org/10.3390/min11111282>

Massoud, A. Derbalah, A. y Belal, E. (2008). Microbial detoxification of metalaxyl in aquatic system. *Journal of Environmental Sciences*, 20(3), 262-267, ISSN 1001-0742.

[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)60041-8](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)60041-8)

Massoud, A.; Derbalah, A. y Belal, El-Sayed. (2007). Microbial detoxification of metalaxil in aquatic system. *Journal of Environmental Science*, 20. 262-267

Maya, K.; Upadhyay, S. N.; Singh, R. S.; Dubey, S. K. (2012). Degradation kinetics of chlorpyrifos and 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol (TCP) by fungal communities. *Biores. Technol.*, 126, 216-223.

- McLellan, J.; Gupta, S. K. y Kumar, M. (2019). *Feasibility of Using Bacterial-Microalgal Consortium for the Bioremediation of Organic Pesticides: Application Constraints and Future Prospects*. In: Gupta, S.K. y Bux F. (eds) *Application of Microalgae in Wastewater Treatment*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-13913-1\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-030-13913-1_16)
- Megharaj, M. (2014). *Encyclopedia of Toxicology. Bioremediation, 485-489*.  
DOI:10.1016/b978-0-12-386454-3.01001-0
- Méndez, J. y Bertsch, F. (2012). *Guía para la interpretación de la fertilidad de los suelos de Costa Rica*. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo (1.<sup>a</sup> ed.).  
[https://www.researchgate.net/publication/279172745\\_Guia\\_para\\_la\\_interpretacion\\_de\\_la\\_fertilidad\\_de\\_los\\_suelos\\_de\\_Costa\\_Rica](https://www.researchgate.net/publication/279172745_Guia_para_la_interpretacion_de_la_fertilidad_de_los_suelos_de_Costa_Rica)
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2008). *Buenas Prácticas Agropecuarias*.  
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/P01-4955.PDF>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2022). *Caracterización del área de influencia de Agencia*. Agencia de Extensión Agropecuaria de Zarcero (Informe oficial).
- Mishra, S.; Zhang, W.; Lin, Z.; Pang, S.; Huang, Y.; Bhatt, P. y Chen, S. (2020). *Carbofuran toxicity and its microbial degradation in contaminated environments*. *Chemosphere*.  
DOI: 10.1016/j.chemosphere.2020.127419
- Mitra, J.; Mukherjee, P.; Kale, S. y Murthy, N. (2001). *Bioremediation of DDT in soil by genetically improved strains of soil fungus Fusarium solani*. DOI:  
10.1023/a:1013117406216

- Mohler, C. L. y Johnson, S. E. (eds). (2009). *Rotaciones de Cultivos en Granjas Orgánicas: un Manual de Planificación (en inglés) Crop Rotations on Organic Farms: A Planning Manual*. Natural Resource, Agriculture and Engineering Service.  
[www.sare.org/Learning-Center/Books/Crop-Rotation-on-Organic-Farms](http://www.sare.org/Learning-Center/Books/Crop-Rotation-on-Organic-Farms)
- Monsalve, O.; Gutiérrez, J. y Cardona, W. (2017). *Factores que intervienen en el proceso de mineralización de nitrógeno cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo*. Una revisión. Doi. <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663>
- Mora, S. y Quirós, Y. (2018). *Boletín Estadístico Agropecuario* (n.º 28). Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agrípecuaria.
- Moreno, C. (2009). *Degradación de carbofuran presente en el suelo como consecuencia del cultivo de papa por medio de oxidación avanzada y tratamiento biológico acoplados*. Tesis de grado. Universidad de los Andes.
- Motonaga, K.; Takagi, K. y Matumoto, S. (1996). Biodegradation of chlorothalonil in soil after suppression of degradation. *Biology and Fertility of Soils*, 23(3), 340-345.  
doi:10.1007/bf00335964
- Mukhopadhyay, S. y Maiti, S. (2010). Phytoremediation of metal mine waste. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9(10) 560-575.  
[http://www.idosi.org/aejaes/jaes9\(5\)/17.pdf](http://www.idosi.org/aejaes/jaes9(5)/17.pdf)
- Muñoz, F. (2015). *Buenas prácticas agrícolas para el mejoramiento ambiental*. Saltra Noticias Centroamericanas.

Navarro García, S. y Barba Navarro, A. (1996). *Comportamiento de los Plaguicidas en el medio ambiente*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

[https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1995\\_09.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1995_09.pdf)

Nsabimana, N.; Haynes, R. y Wallis, F. (2004). *Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use*. 26(2), 0-92.

DOI:10.1016/j.apsoil.2003.12.005

Ochoa-Acuña, H.; Bialkowski, W.; Yale, G. y Hahn, L. (2009). *Toxicity of soybean rust fungicides to freshwater algae and Daphnia magna*. 18(4), 440-446.

DOI:10.1007/s10646-009-0298-1

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2002a). *Captura de carbono en los Suelos para un Mejor Manejo de la Tierra*. Informes sobre recursos mundiales del suelo.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2002b). *Guía sobre buenas prácticas para la aplicación terrestre de plaguicidas*.

<http://www.fao.org/3/y2767s/y2767s00.htm>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). *Guía de buenas prácticas para la gestión y uso sostenible de los suelos en áreas rurales*.

<https://www.fao.org/global-soil-partnership/resources/highlights/detail/es/c/1143560/>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2015). *La importancia de los suelos*. <https://www.fao.org/soils-2015/blog/la-importancia-de-los-suelos/fr/>

- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2003). *Efectos de los plaguicidas en la salud y el ambiente en Costa Rica*.
- Orjuela, H. B. (2016). El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 33(2), 117-124.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/rcia/v33n2/v33n2a11.pdf>
- Pan, X.; Lin, D.; Zheng, Y.; Zhang, Q.; Yin, Y.; Cai, L.; Fang, H. y Yu, Y. (2016). *Biodegradation of DDT by Stenotrophomonas sp. DDT-1: Characterization and genome functional analysis*. Sci Rep. Feb 18; 6:21332. DOI: 10.1038/srep21332. PMID: 26888254; PMCID: PMC4758049.
- Pathak, J.; Rajneesh; Maurya, P. K.; Singh, S. P.; Häder, D. P. y Sinha, R. P. (2018). Cyanobacterial Farming for Environment Friendly Sustainable Agriculture Practices: Innovations and Perspectives. *Front. Environ. Sci.*; 6:1-13. DOI: 10.3389/fenvs.2018.00007
- Paustian, K.; Andrén, O.; Janzen, H.; Lal, R.; Smith, P.; Tian, G.; Tiessen, H.; Van Noordwijk, M. y Woome, P. (1997). *Agricultural soils as a sink to mitigate CO<sub>2</sub> emissions*. 13(Supplement s4), 230-244. DOI:10.1111/j.1475-2743.1997.tb00594.x
- Peña, Y. (2016). *Degradación microbiana de compuestos xenobióticos*. Ciencias Biológicas y Químicas. <http://www.cienciacierta.uadec.mx/2016/12/12/degradacion-microbiana-de-compuestos-xenobioticos/>
- Pérez Brandan, C.; Huidobro, J. y Álvarez, M. (2020). *Carbono de la biomasa microbiana de los suelos como indicador de cambios en sistemas productivos locales*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. <http://hdl.handle.net/20.500.12123/7966>

Pesticide Action Network International (PAN). (2021). *Lista de plaguicidas altamente peligrosos de PAN internacional*.

Petra, S. K. y Proctor, J. (2001). Why plants grow poorly on very acid soils: are ecologists missing the obvious? *Journal of Experimental Botany*, 52(357), 791-799.  
<https://doi.org/10.1093/jexbot/52.357.791>

Pfaender, F. K. y Alexander, M. (1973). Effect of nutrient additions on the apparent cometabolism of DDT. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21(3), 397-399.  
DOI:10.1021/jf60187a046

Piedra Castro, L.; Ramírez Muñoz, F.; Luna Meneses, S. y Araya Vargas, A. (2017). *Manual de buenas prácticas agrícolas y ambientales para el cultivo del arroz en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Barra del Colorado, Costa Rica*.  
[http://www.bctm.una.ac.cr/documentos/Manual\\_de\\_Buenas\\_Practicas\\_Agricolas\\_y\\_Ambientales.pdf](http://www.bctm.una.ac.cr/documentos/Manual_de_Buenas_Practicas_Agricolas_y_Ambientales.pdf)

Podbielska, M.; Kus-Liśkiewicz, M.; Jagusztyn, B. *et al.* (2023). Effect of microorganisms on degradation of fluopyram and tebuconazole in laboratory and field studies. *Environ Sci Pollut Res* 30, 47727-47741. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25669-3>

Podbielska, M.; Szpyrka, E.; Piechowicz, B.; Sadło, S. y Sudoł, M. (2018). Assessment of boscalid and pyraclostrobin disappearance and behavior following application of effective microorganisms on apples. *Journal of Environmental Science and Health, Part, B.*, 1-9. DOI:10.1080/03601234.2018.1474554

- Portal Agrícola. (2018). *Ventajas e inconvenientes de la labranza cero o técnica del no arado (Fotografía)*. <https://www.portalfruticola.com/noticias/2018/07/24/ventajas-e-inconvenientes-de-la-labranza-cero-o-tecnica-del-no-arado/>
- Putnam, R. A.; Nelson, J. O. y Clark, J. M. (2003). The persistence and degradation of chlorothalonil and chlorpyrifos in a cranberry bog. *J. Agric Food Chem* 51(1):170-176. DOI:10.1021/jf020744r
- Qian, Le.; Qi, S.; Cao, F.; Zhang, J.; Zhao, F.; Li, C. y Wang, C. (2018). *Toxic effects of boscalid on the growth, photosynthesis, antioxidant system and metabolism of Chlorella vulgaris*. Environmental Pollution, S0269749118306900-. DOI:10.1016/j.envpol.2018.06.055
- Rahman, M.; Hoon Lee, S.; Chung Ji, H.; Humanayan, A.; Stephen Jones, C. y Lee, K. (2018). Importance of Mineral Nutrition for Mitigating Aluminum Toxicity in Plants on Acidic Soils: Current Status and Opportunities. *Int J. Mol Sci. Oct 8; 19(10):3073*. DOI: 10.3390/ijms19103073.
- Rahman, P.; Kourkoutas, Y. y Rahman, T. (2002). Enhanced Bioremediation of n-alkaline in petroleum sludge using bacterial consortium amended with Rhamnolipid and Micronutrients. *Boiresource Techonology*, 90(2) 159-168. [https://www.researchgate.net/publication/10631632\\_Enhanced\\_Bioremediation\\_of\\_nalkaline\\_in\\_Petroleum\\_Sludge\\_Using\\_Bacterial\\_Consortium\\_Amended\\_with\\_Rhamnolipid\\_and\\_Micronutrients](https://www.researchgate.net/publication/10631632_Enhanced_Bioremediation_of_nalkaline_in_Petroleum_Sludge_Using_Bacterial_Consortium_Amended_with_Rhamnolipid_and_Micronutrients)
- Ramírez Muñoz, F.; Orozco Aceves, M.; Fournier Leiva, M. L.; Berrocal Montero, S. E.; Echeverría Sáenz, S.; De la Cruz Malavassi, E. y Ruepert, C. (2017, 17 de junio). *Las*

*buenas prácticas agrícolas en el uso y manejo de agroquímicos en la zona hortícola de Zarcero, Alajuela.*

- Rasool, S.; Rasool, T. y Muzamil, K. (2022). A review of interactions of pesticides within various interfaces of intrinsic and organic residue amended soil environment. *Chemical Engineering Journal Advances*. <https://doi.org/10.1016/j.ceja.2022.100301>
- Ratnasari, A.; Syafiuddin, A.; Syamimi Zaidi, N.; Hong Kueh, A.; Hadibarata, T.; Dwi Prastyo, D.; Ravikumar, R. y Sathishkumar, P. (2022). Bioremediation of micropollutants using living and non-living algae-Current perspectives and challenges. *Environmental Pollution*, 292. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118474>
- Regitano, J. B.; Tornisielo, V. L.; Lavorenti, A. y Pacovsky, R. S. (2001). Transformation pathways of <sup>14</sup>C-chlorothalonil in tropical soils. *Arch Environ Contam Toxicol* 40(3):295-302. DOI:10.1007/ s002440010175
- Reynolds, C. M.; Wolf, D. C.; Gentry, T. J.; Perry, L. B.; Pidgeon, C. S.; Koenen, B. A.; Rogers, H. B. Beyrouthy, C. A. (1999). Plant enhancement of indigenous soil microorganisms: a low cost treatment of contaminated soils. *Polar Rec.* 35: 33-40.
- Rocalba Blog. (2020). *Asociación y Rotación de Cultivos en el Huerto*. (Fotografía). <https://www.rocalba.es/blog/asociacion-y-rotacion-de-cultivos-en-nuestro-huerto/>
- Rojas, E. (2016). Prohibición y restricción en el uso y comercialización de plaguicidas agrícolas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 40(1), 89-105. <https://dx.doi.org/10.15517/rac.v40i1.25342>

- Romeh, A. A. (2009). Phytoremediation of water and soil contaminated with Imidacloprid pesticide by *Plantago Major*, L. *International Journal of Phytoremediation*, 12(2), 188-199. <https://doi.org/10.1080/15226510903213936>
- Salazar, M. J. y Pignata, M. L. (2013). *Lead accumulation in plants grown in polluted soils. Screening of native species for phytoremediation.* Journal of Geochemical Exploration. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/15297/CONICET\\_Digital\\_Nro.18691.pdf;jsessionid=25274E08F8A0CDC5F8AB990C2B21796C?sequence=1](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/15297/CONICET_Digital_Nro.18691.pdf;jsessionid=25274E08F8A0CDC5F8AB990C2B21796C?sequence=1)
- Samper, M. (2005). *Trayectorias y Disyuntivas del Agro en la Zona Norte de Costa Rica.* Universidad de Costa Rica. 1.<sup>a</sup> ed. <http://repositorio.iis.ucr.ac.cr/handle/123456789/94>
- Sanz, S. B. (s. f.). *Aplicación de la Fitorremediación a Suelos Contaminados por Metales Pesados.* [Tesis de grado no publicada] Universidad Complutense. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/BAY%C3%93N%20SANZ,%20SARA.pdf>
- Sekara, A.; Poniedzialek, M.; Jędrszczyk, E. y Ciura, J. (2005). Cadmium and Lead Accumulation and Distribution in the Organs of Nine Crops: Implications for Phytoremediation. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14(4) 509-516. <http://www.pjoes.com/Cadmium-and-Lead-Accumulation-and-Distribution-in-the-Organs-of-Nine-Crops-Implications,87786,0,2.html>
- Shelton, D. y Parking, T. (1991). *Effecto of moisture on sorption and biodegradation of carbofuran in soil.* J. Agric. Food Chem. <https://doi.org/10.1021/jf00011a036>

- Silvia Arroyave, S. M. y Correa Restrepo, F. J. (2009). *Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica*. Semestre Económico-Universidad de Medellín. <http://www.scielo.org.co/pdf/seec/v12n23/v12n23a2.pdf>
- Stougaard, R.; Shea, P. y Martin, A. (1990). Effect of Soil Type and pH on Adsorption, Mobility, and Efficacy of Imazaquin and Imazethapyr. *Weed Science*, 38(1), 67-73.  
<http://www.jstor.org/stable/4044949>
- Sutherland, D. L. y Ralph, P. J. (2019). *Microalgal bioremediation of emerging contaminants- Opportunities and challenges*. *Water Research*, 114921. doi:  
10.1016/j.watres.2019.114921
- Thompson, I.; Van der Gast, C.; Ciric, L. y Singer, A. (2005). Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection. *Environmental Microbiology*, 909-915.  
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00804.x>
- Touliabah, H. E.; El-Sheekh, M. M.; Ismail, M. M. y El-Kassas, H. A. (2022). Review of Microalgae-and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants. *Molecules*. Feb 8; 27(3):1141. DOI: 10.3390/molecules27031141. PMID: 35164405; PMCID: PMC8839941.
- Tyagi, M.; da Fonseca, M. y Carvalho, C. (2010). Bioaugmentation and bioestimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Springer Science + Business Media*, 22(2) 231-241. DOI:10.1007/s10532-010-9394-4
- Ugaz, J.; Vega, H.; Iglesias, S. y Carreño, C. (2020). *Biosurfactantes en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos*. <http://dx.doi.org/10.1590/SciELOPreprints.642>

Upadhyay, L. S. y Dutt, A. (2017). *Microbial Biotechnology*. Saltador; Singapur.

Desintoxicación microbiana de plaguicidas organofosforados residuales en prácticas agrícolas; pp. 225-242.

Van Es, H. (2017). A New Definition of Soil. *CSA News*, 62(10), 20–21.

doi:10.2134/csa2017.62.1016

Vargas, E. (2022). *Uso aparente de plaguicidas en la agricultura de Costa Rica* (Informe para el PNUD)

Velásquez Mazariegos, S.; Chaves, G. y Gutiérrez, M. (2013, 01 de enero). *Manual Spatial Analyst: zonificación para el ordenamiento territorial de la cuenca del río Turrialba*.

Verma, J. P.; Jaiswal, D. K. y Sagar, R. (2014). Pesticide relevance and their microbial degradation: a-state-of-art. *Rev. Environ Sci Biotechnol* 13, 429-466.

<https://doi.org/10.1007/s11157-014-9341-7>

Vingiani, G. M.; De Luca, P.; Ianora, A.; Dobson, A. D. W. y Lauritano, C. (2019). Microalgal Enzymes with Biotechnological Applications. *Mar Drugs*. Aug 5; 17(8):459. DOI: 10.3390/md17080459. PMID: 31387272; PMCID: PMC6723882.

Wedemeyer, G. (1966). Dechlorination of DDT by *Aerobacter aerogenes*. *Science*, 152(3722). 647-647. DOI:10.1126/science.152.3722.647

Wesley, W.; Gregory, J. R.; Reed, J. y Priester, L. (1969). *Accumulation of Parathion and DDT by Some Algae and Protozoa*. 16(1), 69-71. doi:10.1111/j.1550-7408.1969.tb02234.x

Ye, X.; Dong, F. y Lei, X. (2018). *Recursos microbianos y ecología: degradación microbiana de plaguicidas*. *Nat. Recurso Conservar Res.*; 1 DOI: 10.24294/nrcr.v1i1.242.

Zaccagnini, M. E.; Wilson, M. y Oszust, J. D. (2014). *Manual de buenas prácticas para la conservación de suelos, la biodiversidad y sus servicios ecosistémicos*.

DOI:10.13140/2.1.1820.7045



Zhang, T. y Zhang, H. (2022). Microbial Consortia Are Needed to Degrade Soil Pollutants. *Microorganisms*. Jan 24; 10(2):261. DOI: 10.3390/microorganisms10020261. PMID: 35208716; PMCID: PMC8874626.

Zoghbi, N. y Hernández, T. (2019). *Oomicetos: amenaza sin control para la agricultura y para todos*. [https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde\\_Herbario/2019/2019-09-19-Zoghbi-Rodriguez-Hernandez-Sotomayor-Oomicetos.pdf](https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2019/2019-09-19-Zoghbi-Rodriguez-Hernandez-Sotomayor-Oomicetos.pdf)

Zuccaro, A.; Yousuf, A. y Pollio, J. P. (2020). *Steyer, Microalgae cultivation systems, in: A. Yousuf (Ed.), Microalgae cultivation for biofuels production*, Elsevier, United Kingdom, pp. 11-29. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-01358-4>

## Anexos

## Anexo 1. Herramienta de toma de información de muestreo

		Universidad Nacional UNA Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas IRET Laboratorios ECOTOX y LAREP			
<b>Hoja de campo</b> RR033, versión 101.0 del 23/02/16. 1 pp. jgc-svv.					
<b>Proyecto:</b>					
Fecha:	6/9/21	Código del muestreo:	B3-T3		
Área del muestreo:	9 m <sup>2</sup>	Hora:	13:50		
Punto del muestreo:	N: 45506016	Responsable:	Gabriel Brenes		
Coordenadas:	E: 1130155, 77				
Tipo de cultivo (orgánico/conventional)		Nombre del propietario de la finca			
Convencional		José López			
<b>Condiciones ambientales:</b>					
T(°C) atmósfera:	-				
Nubosidad:	SI				
Viento:	SI				
Pluviosidad:	SI (Baja)				
<b>Muestras de suelo</b>					
Código de Campo		Descripción de la muestra y observaciones			
B3-T3		Moderada materia orgánica, textura limo - Arenosa, presenta baja plasticidad			
<b>Muestras de hortaliza</b>					
Código Campo		Descripción de la muestra y observaciones			



### Anexo 3. Método de extracción de plaguicidas en matriz de suelo

Insumos	
Equipos	Materiales
Balanza granataria	Tubos falcon 50 ml
Baño ultrasónico	Filtro PTFE hidrofóbico 13 mm de 0,2 $\mu$ m
Vortex	Viales de vidrio de inyección para LC/GSMSMSM
Reactivos	
Acetato de etilo para análisis de residuos (PAR)	
Sulfato de sodio calidad para análisis de residuos	
Solución de estandar interno que contiene Clorpirifos D10	
Solución de estandar interno que contiene Diuron D6	

La extracción de los plaguicidas de la muestra de suelo se realizó siguiendo una adaptación del método de QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003). Para esto se dispuso 5 g de la muestra de suelo dentro de un tubo falcón de 50 ml, se aplicó un dopaje con los estándares internos diuron-d<sub>6</sub> y clorpirifós-d<sub>10</sub> como control de calidad y se agregaron 10 ml de acetato de etilo grado LCMS (PAR, Suprasolv, Merk, Alemania) como solvente.

La mezcla se agitó por aproximadamente 2 min a mano, después, se introdujo en el baño sónico por un periodo de 15 min, se retiró y se agregaron 5 g de sulfato de sodio para secarla. Se procedió a agitar de nuevo por 2 min y se introdujo por un periodo de 10 min en la centrífuga a 3000 r. p. m., por último, se extrajo y filtró el sobrenadante para disponerlo en viales de inyección. Los extractos obtenidos se inyectaron tanto en equipo de cromatografía de gases GC/MS, así como en equipo de cromatografía líquida LC/MS.

## Anexo 4. Método de extracción de nematodos



### ANÁLISIS NEMATOLÓGICO



Heredia, 21 de setiembre de 2021

#### 1. DATOS GENERALES

**ATENCIÓN:** Marta Orozco (Gabriel Brenes) Cel: 8678 1854

Correo electrónico: martha.orozco.aceves@una.cr

**FECHA DE RECOLECTA DE LA MUESTRA:** 07 de setiembre de 2021

**FECHA DE INGRESO DE LA MUESTRA:** 09 de setiembre de 2021

**FECHA DE PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA:** 14 de setiembre de 2021

**CULTIVO:** Culantro

**MUESTRAS:** Suelo

**LOCALIDAD:** Zarcero de Alajuela

#### 2. MÉTODO DE EXTRACCIÓN

La muestra de suelo fue homogenizada y procesada por el método de centrifugación – flotación, utilizando dos lavados, 30 segundos de suspensión, un juego de tamices superpuesto de 100 y 400 mallas y una solución extractora de sacarosa de 1.18 de gravedad específica. Los nematodos fueron contados e identificados en un microscopio invertido a 20X. Los resultados están referidos a submuestras de 100 gramos de suelo.

## Anexo 5. Datos de estación meteorológica mecánica 69556 San Vicente

INSTITUTO METEOROLOGICO NACIONAL  
DEPARTAMENTO DE INFORMACION  
PROMEDIOS MENSUALES DE DATOS CLIMATICOS  
(estaciones mecánicas)

ESTACION : 69 556 SAN VICENTE, CIUDAD QUESADA    Latitud: 10 ° 17 ' N Longitud: 84 ° 22 ' O    Altitud. 1450 m.s.n.m																
Elementos	Periodos		Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Oct.	Nov.	Dic.	Prom.	Total
LLUVIA	1973	2016	261.9	174.0	100.3	102.1	328.2	439.1	472.9	449.4	425.1	435.6	546.9	454.4	<b>349.2</b>	<b>4189.9</b>
TEM MAX.	1974	2007	19.2	19.6	20.4	21.0	21.2	21.1	20.7	20.8	21.0	20.6	19.9	19.5	<b>20.4</b>	
TEM MIN.	1974	2007	13.0	13.1	13.1	13.7	14.4	14.4	14.4	14.3	14.0	14.1	14.0	13.6	<b>13.8</b>	
TEM MED.	1974	2007	16.1	16.3	16.8	17.4	17.8	17.7	17.6	17.5	17.5	17.4	16.9	16.6	<b>17.1</b>	
VIENTO DIR. PREDOMINANTE																
Promedio dias con lluvia >= 0.1 mm.			18	14	13	14	24	27	29	28	27	27	26	23	270.0	Total.

## Anexo 6. Resultados de análisis químico

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA		CIA Centro de Investigaciones Agronómicas	
CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES REPORTE DE ENSAYO RE-R01 (V3)			
N° DE REPORTE: <b>78826</b>			
USUARIO:	FUNDACION DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL		
RESPONSABLE:	MARTHA OROZCO ACEVES		
CORREO:	martha.orozco.aceves@una.cr		
TELÉFONO:	2263-7444, 8678-1854		
PROVINCIA:	ALAJUELA	ANÁLISIS:	QC, CN
CANTÓN:	ZARCERO	FECHA RECEPCIÓN:	14/09/2021
LOCALIDAD:	ZARCERO	EMISIÓN DE REPORTE:	23/09/2021
CULTIVO:	CULANTRO CASTILLA	N° DE MUESTRAS TOTAL:	3
		PÁGINA:	1/2
ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS			
Solución Extractora:		pH	cmol(+)/L
<b>KCl-Olsen Modificado</b>		H <sub>2</sub> O	%
ID USUARIO	ID LAB	ACIDEZ	Ca
B1 - T1	S-21-05228	4	Mg
B1 - T2	S-21-05227	1	K
B1 - TESTIGO	S-21-05228	0.2	CICE
		5	SA
		27	P
		43	Zn
		4.6	Cu
		8	Fe
		138	Mn
		19	
		15	
		20	
		2.9	
		8	
		110	
		14	
		65	
		5.4	
		8	
		158	
		25	
ULTIMA LINEA			
Los valores debajo de cada elemento corresponden con los Niveles Criticos generales para la solución extractora usada			
CICE=Capacidad de intercambio de Catones Efectiva=Acidez+Ca+Mg+K		SA=Porcentaje de Saturación de Acidez=(Acidez/CICE)*100	



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

CIA Centro de  
Investigaciones  
Agronómicas

CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN  
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES

**REPORTE DE ENSAYO**

RE-R01 (V3)

N° DE REPORTE: **78965**

USUARIO: FUNDACION DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL

RESPONSABLE: MARTHA OROZCO ACEVES  
CORREO: martha.orozco.aceves@una.cr  
TELÉFONO: 2263-7444, 8678-1854

PROVINCIA: ALAJUELA  
CANTÓN: ZARCERO

CULTIVO: CULANTRO CASTILLA

ANÁLISIS: QC CN  
FECHA RECEPCIÓN: 24/09/2021  
EMISIÓN DE REPORTE: 30/09/2021  
N° DE MUESTRAS TOTAL: 6  
PÁGINA: 1/2

**ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS**

Solución Extractora:		pH		cmol(+)/L						%		mg/L				
<b>KCl-Olsen Modificado</b>		H <sub>2</sub> O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn			
ID USUARIO	ID LAB	5.5	4	1	0.2	5			10	3	1	10	5			
B3 - T1	S-21-05459	5.3	0.61	4.02	0.73	0.45	5.81	11	48	6.2	8	112	12			
B3- TESTIGO	S-21-05460	5.3	0.40	3.54	0.88	0.81	5.63	7	22	2.7	8	100	7			
B3 - T2	S-21-05461	5.1	0.80	3.89	0.59	0.43	5.71	14	60	5.6	7	116	10			
B1 - T3	S-21-05462	5.1	0.61	2.47	0.37	0.43	3.88	16	23	2.3	7	101	8			
B2 - T3	S-21-05463	5.1	0.81	3.42	0.41	0.47	5.11	16	54	5.1	7	119	8			
B2 - T2	S-21-05464	5.2	0.60	2.35	0.35	0.46	3.76	16	17	1.9	6	94	7			

ULTIMA LINEA

Los valores debajo de cada elemento corresponden con los Niveles Críticos generales para la solución extractora usada

CICE=Capacidad de intercambio de Cationes Efectiva=Acidez+Ca+Mg+K

SA=Porcentaje de Saturación de Acidez=(Acidez/CICE)\*100



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

CIA Centro de  
Investigaciones  
Agronómicas

CIUDAD DE LA INVESTIGACIÓN  
LABORATORIO DE SUELOS Y FOLIARES

**REPORTE DE ENSAYO**

RE-R01 (V3)

N° DE REPORTE: **79057**

USUARIO: FUNDACION DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL

RESPONSABLE: MARTHA OROZCO ACEVES  
CORREO: martha.orozco.aceves@una.cr  
TELÉFONO: 2263-7444, 8678-1854

PROVINCIA: ALAJUELA

CULTIVO: VARIOS CULTIVOS

ANÁLISIS: QC CN  
FECHA RECEPCIÓN: 01/10/2021  
EMISIÓN DE REPORTE: 07/10/2021  
N° DE MUESTRAS TOTAL: 6  
PÁGINA: 1/2

**ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS**

Solución Extractora:		pH		cmol(+)/L						%		mg/L				
<b>KCl-Olsen Modificado</b>		H <sub>2</sub> O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn			
ID USUARIO	ID LAB	5.5	0.5	4	1	0.2	5		10	3	1	10	5			
FINCA JOSE LOPEZ - B3-T3 (CULANTRO)	S-21-05667	5.2	0.73	3.51	0.57	0.43	5.24	14	47	5.2	9	142	10			
FINCA JOSE LOPEZ - B2-TESTIGO (CULANTRO)	S-21-05668	5.1	0.97	2.89	0.40	0.37	4.63	21	43	5.2	8	147	10			
FINCA JOSE LOPEZ - B2-T1 (CULANTRO)	S-21-05669	5.0	1.36	2.53	0.28	0.36	4.53	30	63	6.5	9	168	14			

ULTIMA LINEA

Los valores debajo de cada elemento corresponden con los Niveles Críticos generales para la solución extractora usada

CICE=Capacidad de intercambio de Cationes Efectiva=Acidez+Ca+Mg+K

SA=Porcentaje de Saturación de Acidez=(Acidez/CICE)\*100

## Anexo 7. Resultados de biomasa microbiana

### Reporte de Resultados de Ensayo

Número de Solicitud: 78809      Fecha de emisión del reporte: 07/10/21  
**Información del Usuario:**  
 Nombre: FUNDACION DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL  
 Correo: martha.orozco.aceves@una.cr  
 Dirección: ALAJUELA, ZARCERO, ZARCERO  
 Contacto: MARTHA OROZCO ACEVES  
 Teléfono: 2263-7444

### Resultados del ensayo

ID Lab.	ID Cliente	Biomasa (mg C/kg suelo)
MI-670-21	B2-T1	161
MI-671-21	B2-T3	109
MI-672-21	B2-T2	172
MI-673-21	B3-T2	71
MI-674-21	B1-T3	229
MI-675-21	B1-TESTIGO	79
MI-676-21	B1-T2	170
MI-677-21	B2-TESTIGO	172



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

**CIA** Centro de  
Investigaciones  
Agronómicas

### Reporte de Resultados de Ensayo

Número de Solicitud: 78825      Fecha de emisión del reporte: 13/10/21  
**Información del Usuario:**  
 Nombre: FUNDACION DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL  
 Correo: martha.orozco.aceves@una.cr  
 Dirección: ALAJUELA, ZARCERO, ZARCERO  
 Contacto: MARTHA OROZCO ACEVES  
 Teléfono: 2263-7444

### Resultados del ensayo

ID Lab.	ID Cliente	Biomasa (mg C/kg suelo)
MI-684-21	B1-T1	140
MI-685-21	B3-T3	94
MI-686-21	B3-T1	171
MI-687-21	B3-TESTIGO	133

## Anexo 8. Resultados de análisis nematológico

### RESULTADOS

Cuadro 1. Número de nematodos fitoparásitos y de vida libre detectados en 100 g de suelo, en Zarcero de Alajuela, 2021.

Nematodos Asociados	100 g de suelo											
	B1T1	B1T2	B1T3	B1 Testigo	B2T1	B2T2	B2T3	B2 Testigo	B3T1	B3T2	B3T3	B3 Testigo
<i>Meloidogyne</i> sp.	11	3	2	-	20	7	5	9	2	21	35	7
<i>Helicotylenchus</i> sp.	2	-	-	2	25	-	15	4	-	24	37	112
<i>Aphelenchus</i> sp.	4	-	-	7	8	2	9	6	17	11	6	13
<i>Aphelenchoides</i> sp.	25	5	6	2	-	4	13	6	4	17	16	-
<i>Mesocriconema</i> sp.	-	4	-	-	2	2	-	3	-	-	-	-
<i>Trichodorus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	6	-	-	-	-	-
<i>Tylenchus</i> sp.	-	-	-	-	11	-	-	-	5	-	-	6
Vida Libre	125	57	112	69	105	47	415	107	91	308	306	107

## Anexo 9. Cronograma de actividades

Objetivo	Actividades	Año															
		2021						2022									
		Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
Elaboración de anteproyecto	Definición del tema																
	Indagación bibliográfica																
	Avance I																
	Avance II y III																
	Avance IV																
	Presentación de anteproyecto																
	Entrega de TFG al CTFG y revisión.																
Objetivo específico # 1	Recopilación de información bibliográfica sobre aspectos físicos (climatológicos: precipitación, humedad, temperatura, disponibilidad de luz solar y características del suelo)																
	Definición de unidades experimentales y Muestreo de Suelos (Línea base)																
	Análisis de muestras en laboratorio																
	Depuración y sistematización de información recabada																
Objetivo específico # 2	Desarrollo experimental en campo																
	Muestreo de suelos (Evaluación final)																
	Análisis de muestras en laboratorio																
	Evaluación de resultados obtenidos																
Objetivo específico #3	Elaboración de propuesta de biorremediación (Plan)																
	Elaboración de taller educativo o actividad educativa																
	Ejecución de taller en campo con productores agrícolas																
Entrega de proyecto finalizado	Redacción del proyecto final																
	Revisiones y correcciones																
	Trámite de entrega del proyecto																

*Nota.* Este cronograma establece un plan de ruta temporal para la ejecución de actividades para el desarrollo del proyecto.

## Anexo 10. Presupuesto del proyecto

Categoría	Rubro	Fuente de Financiamiento		Total(€)
		Recursos propios (€)	Aporte del Proyecto (Universidad)(€)	
<b>COSTOS DIRECTOS</b>				
Personal	<i>Investigador Principal</i>	€886,122.00		€886,122.00
<b>Subtotal</b>				<b>€886,122.00</b>
Servicios Adquiridos	<i>Análisis Microbiológico de muestras en laboratorio</i>	€238,680.00		€238,680.00
	<i>Análisis químico de muestras en laboratorio</i>	€306,000.00		€306,000.00
	<i>Análisis de residuos de plaguicidas</i>		€2,400,000.00	€2,400,000.00
	<i>Asesoría idiomática</i>	€84,150.00		€84,150.00
<b>Subtotal</b>				<b>€3,028,830.00</b>
Gastos de viaje	<i>Viáticos</i>	€128,000.00		€128,000.00
	<i>Combustible</i>	€74,550.00		€74,550.00
<b>Subtotal</b>				<b>€202,550.00</b>
<b>Equipos y Materiales</b>				
Generales	<i>Uso de GPS</i>	€65.92		€65.92
	<i>Uso de cámara fotográfica</i>	€10.96		€10.96
<b>Subtotal</b>				<b>€76.88</b>
Equipo de muestreo	<i>Balsas Ziploc medianas</i>	€5,440.00		€5,440.00
	<i>Balde para Mezcla</i>	€3,000.00		€3,000.00
	<i>Guantes</i>	€200.00		€200.00
	<i>Hielera</i>	€2,500.00		€2,500.00
	<i>Estacas</i>	€1,000.00		€1,000.00
	<i>Rollo de Pabito</i>	€1,000.00		€1,000.00
	<i>Uso del barreno</i>		€12.42	€12.42
	<i>Uso de pala</i>	€16.24		€16.24
	<i>Marcador</i>	€400.00		€400.00
	<i>Cinta (Masking) color blanco</i>	€600.00		€600.00
<b>Subtotal</b>				<b>€14,168.66</b>
Equipo Experimental	<i>Semillas de "Phaseolus Vulgaris Leguminosae"</i>	€4,500.00		€4,500.00
	<i>Producto comercial para biorremediación</i>		€130,000.00	€130,000.00
	<i>Rótulos</i>	€4,200.00		€4,200.00
	<i>Bomba de Pulverización</i>	€47,950.00		€47,950.00
<b>Subtotal</b>				<b>€186,650.00</b>
Equipo de cómputo y licencias	<i>Uso de computadora</i>	€1,807.22		€1,807.22
	<i>Uso de licencia QGIS</i>	€0.00		€0.00
<b>Subtotal</b>				<b>€1,807.22</b>
Equipo de Comunicación	<i>Uso de proyector</i>		€3.39	€3.39
	<i>Impresión de panfletos o documento</i>	€400.00		€400.00
<b>Subtotal</b>				<b>€403.39</b>
<b>COSTOS INDIRECTOS</b>				
Costos de Dirección y Supervisión	<i>Lectura y asesoría de guías y coordinadores</i>		€384,314.10	€384,314.10
<b>Subtotal</b>				<b>€384,314.10</b>
Administración y servicios generales e infocomunicaciones	<i>Uso del servicio eléctrico</i>	€15,060.90		€15,060.90
	<i>Uso de servicio de Internet</i>	€8,516.13		€8,516.13
<b>Subtotal</b>				<b>€23,577.03</b>
<b>Total</b>		<b>€1,766,219.37</b>	<b>€2,914,329.91</b>	<b>€4,728,499.28</b>
Porcentaje (%)		37.35%	61.63%	98.99%

*Nota.* Este presupuesto considera todos los aspectos que generan un costo monetario a la ejecución del proyecto.

## Anexo 11. Resultados de presencia de plaguicidas-muestreo final

### Resultados análisis de residuos de plaguicidas en muestras de suelo

Servicio 521-18  
 Nombre Gabriel Brenes TFG-IGA  
 Gira 2  
 Fecha de ingreso 22/11/21  
 Informe: 15/03/23 borrador v1, Cru

N° Lab			21-331 A	21-332 A	21-333 A	21-334 A	21-335 A	21-336 A	21-337 A	21-338 A	21-339 A	21-340 A	21-341 A	21-342 A
Código		LR	B1-testigo	B1-T1	B1-T2	B1-T3	B2-Testigo	B2-T1	B2-T2	B2-T3	B3-Testigo	B3-T1	B3-T2	B3-T3
Sustancia	unidad													
Boscalid	ng/g ps	1	18,9	14,9	8,3	7,8	11,3	12,8	6,7	13,9	12,8	7,8	13,9	11,0
Buprofesin	ng/g ps	0,5	nd	nd	nd	0,9	0,9	1,3	0,5	1,8	0,5	0,9	0,9	nd
Carbofuran	ng/g ps	0,5	0,9	1,8	nd	nd	0,5	0,9	nd	0,9	1,4	nd	2,2	0,9
Cipermetrina	ng/g ps	20	48	65	40	nd	40	54	43	71	78	26	87	61
Clorotalonil	ng/g ps	10	14	16	nd	nd	13	nd	48	nd	29	nd	nd	nd
Clorpirifos	ng/g ps	2	29	94	72	45	22	49	11	29	19	19	65	22
Flutolanil	ng/g ps	0,5	4	36	1	0,4	2	3	0,5	5	2	0,5	4	2
Forato	ng/g ps	5	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
Imidacloprid	ng/g ps	0,5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Linuron	ng/g ps	5	31	37	25	21	23	32	28	31	27	29	35	28
Metalaxil	ng/g ps	2	9,2	10,8	3,7	2,2	5,4	6,8	2,9	7,2	7,3	3,6	7,6	5,7
p,p DDD	ng/g ps	20	nd	nd	632	31,3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
p,p DDE	ng/g ps	20	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
Tebuconazol	ng/g ps	1	9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	10	nd	nd	nd
Terbufos sulfone	ng/g ps	1	7,0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Terbutrina	ng/g ps	1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
4-hidroxi clorotalonil	ng/g ps	1	54	128	106	129	20	33	15	19	42	51	87	80

#### Comentario:

Las muestras fueron extraídas por GBB

Los análisis se hicieron mediante GCMS Y LCMSMS en Laboratorio de Análisis de Residuos de Plaguicidas (LAREP-IRET-UNA)

ver lista adjunta para los analitos incluidos en el análisis

LR : límite de reporte

na : no analizada, pendiente

nd : no detectado por encima del límite de reporte

T : traza detectada por debajo del límite de reporte.