

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA



**INTERACCIÓN DEL VERMICOMPOSTAJE Y BIOCARBÓN EN LA
DEGRADACIÓN DE ORGANOFOSFORADOS EN SUELOS**

POR

BENJAMÍN ANDRÉS RAMÍREZ ORTIZ

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

CHILLÁN – CHILE

2023

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA

**INTERACCIÓN DEL VERMICOMPOSTAJE Y BIOCARBÓN EN LA
DEGRADACIÓN DE ORGANOFOSFORADOS EN SUELOS**

POR

BENJAMÍN ANDRÉS RAMÍREZ ORTIZ

**MEMORIA PRESENTADA A LA
FACULTAD DE AGRONOMÍA DE LA
UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO.**

CHILLÁN – CHILE

2023

Aprobada por:

Profesor Asociado, Cristina Muñoz V.

Ing. Agrónoma, Dr.

Guía

Profesor Asociado, Marco Sandoval E.

Ing. Agrónomo, Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Nelson Zapata S.M.

Ing. Agrónomo, Dr.

Asesor

Profesor Asociado, Guillermo Wells M.

Ing. Agrónomo, Mg. Cs.

Decano

RECONOCIMIENTOS

Este trabajo de investigación se enmarca en el proyecto FONDECYT regular 1210503 “Biochar activated for bio-remediation and bio-recovery of soil to promote a climate-smart Agriculture”, financiado por la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Resumen.....	1
Summary.....	1
Introducción.....	2
Materiales y métodos.....	7
Resultados y discusión.....	11
Conclusiones.....	24
Referencias.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

	Página
Figura 1 Actividad de CE en un suelo con aplicación de clorpirifós en diferentes tiempos de incubación 1a) 15 días, 1b) 30 días y 1c) 45 días.....	13
Figura 2 Concentración de clorpirifós en tratamientos a los 15, 30 y 45 días post aplicación.....	18
Figura 3 Concentración de TCP en tratamientos a los 15, 30 y 45 días post aplicación.....	21
Tabla 1 Plaguicidas OPs utilizados en Chile actualmente.....	3
Tabla 2 Propiedades de materiales utilizados en el estudio.....	7
Tabla 3 Identificación de los tratamientos del estudio	8
Tabla 4 Concentración de CP (mg kg suelo^{-1}) en los 15, 30 y 45 días post aplicación.....	17
Tabla 5 Concentración de TCP (mg kg suelo^{-1}) en los 15, 30 y 45 días post aplicación.....	22

INTERACCIÓN DEL VERMICOMPOSTAJE Y BIOCARBÓN EN LA DEGRADACIÓN DE ORGANOFOSFORADOS EN SUELOS

INTERACTION OF VERMICOMPOSTING AND BIOCARBON IN THE DEGRADATION OF ORGANOPHOSPHORATES IN SOILS

Palabras índice adicionales: clorpirifós, carboxilesterasa, biorremediación, vermichar.

RESUMEN

El uso de plaguicidas organofosforados (OP) en la agricultura ha sido una práctica común por décadas, pero su toxicidad para el ambiente y la salud humana ha sido cada vez más evidente y cuestionada, por lo que esta investigación se basa en una vía de desintoxicación de suelo, mediante la evaluación del uso combinado de vermicompost y biocarbón, y su capacidad de degradación de OP. Mediante un experimento bajo condiciones controladas se establecieron muestras de suelo mezcladas con distintas enmiendas orgánicas, las cuales recibieron una aplicación clorpirifós y se monitorearon durante de 45 días, donde se evaluó actividad de carboxilesterasa y degradación del plaguicida. Se determinó que el vermichar de cerdo muestra una notable estabilidad en la actividad enzimática a través del tiempo. Hay una disminución de la concentración de clorpirifós en todos los tratamientos siendo control + OP el que experimenta la mayor disminución, y el uso combinado de vermicompost con biocarbón parece jugar un papel en la degradación del clorpirifós en el suelo. Este estudio hace énfasis en el uso ambiental de las enmiendas orgánicas para la biorremediación de suelos contaminados con pesticidas. Aunque esta área aún está en progreso, nuestra investigación sugiere vías de acción para la desintoxicación de suelos afectados por OP.

SUMMARY

The use of organophosphate (OP) pesticides in agriculture has been a common practice for decades. However, their toxicity to the environment and human health

has become increasingly evident and questioned. Therefore, this research focuses on a soil detoxification pathway by evaluating the combined use of vermicompost and biochar, and their capacity for OP degradation. An experiment was conducted under controlled conditions, where soil samples mixed with different organic amendments were treated with chlorpyrifos and monitored for 45 days. The activity of carboxylesterase and pesticide degradation were evaluated. It was found that pig vermicompost showed notable stability in enzymatic activity over time. There was a decrease in chlorpyrifos concentration in all treatments, with the control + OP treatment experiencing the greatest decrease. The combined use of vermicompost and biochar appears to play a role in chlorpyrifos degradation in the soil. This study emphasizes the environmental use of organic amendments for the bioremediation of pesticide-contaminated soils. Although this area is still a work in progress, our research suggests pathways for the detoxification of OP-affected soils.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas se ha promovido la venta y utilización de plaguicidas debido a que su uso aporta grandes beneficios, tendientes a lograr una mejor y mayor producción de alimentos. Los plaguicidas son sustancias destinadas a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga indeseada en plantas o animales (FAO, 2017). No obstante, su uso inadecuado puede provocar contaminación ambiental y daños a la salud, en ocasiones irreversibles (Muñoz-Quezada *et al.*, 2014). La utilización de plaguicidas ha tenido una importante alza a nivel mundial a partir de los años 90 aumentando de 2,3 millones de toneladas en 1990 a 3 millones en 2000, y llegando a superar a los 4 millones en el año 2019 (FAOSTAT, 2021).

En Chile, actualmente el uso no es menor, con ventas superiores a las 54.000 toneladas, según la declaración de ventas de plaguicidas de uso agrícola del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG, 2019).

El aumento progresivo en la utilización de estas sustancias químicas, por un lado, es un aporte a asegurar la productividad y calidad de los productos provenientes del sector agrícola (Briceño y Diez, 2021), aunque por otro lado la aplicación de

plaguicidas sigue generando problemas de carácter irreversible para la naturaleza, como la pérdida en la fertilidad de los suelos, la contaminación de los ecosistemas, la aparición de nuevas plagas y enfermedades, entre otros efectos (Ramírez, 2018).

Los plaguicidas se pueden clasificar según su nivel de toxicidad, como también según su grupo químico o uso, entre otros parámetros (SAG, 2000). Según el grupo químico, los plaguicidas se pueden catalogar en diferentes familias, dependiendo del tipo de molécula de su ingrediente activo (Ramírez y Lacasaña, 2001) como por ejemplo organoclorados, organofosforados, piretroides, entre otros.

Los plaguicidas organofosforados OPs corresponden a ésteres del ácido fosfórico y de sus derivados, los cuales poseen como característica la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa en el sistema nervioso (Fernández *et al.*, 2010), sus propiedades fisicoquímicas corresponden a una sustancia liposoluble y volátil, cualidades que favorecen su absorción (Marín y Jaramillo, 2015).

Los OPs tienen como principal objetivo controlar y eliminar principalmente insectos, ya sea en el ámbito agrícola como doméstico (Cardona y Giraldo, 2008), por lo que se encuentran dentro de los plaguicidas más tóxicos según la clasificación de toxicidad de plaguicidas (CGR, 2021).

Tabla 1. Plaguicidas OPs utilizados en Chile actualmente.

Nombre común	Nombre comercial	Usos
Paratión	- Folidol-M - Metacide	Protección de cultivos contra insectos masticadores.
Diazinón Fentoato	- Basudin - Diazil Cidial	Control de plagas del suelo, altamente tóxico a las abejas.
Clorpirifós	- Lorsban 75 WG - Clorpirifos 48% CE - Dursban*	Control de plagas de cosechas y se usa para controlar garrapatas en ganado.

Fuente: Cardona y Giraldo (2008).

El clorpirifós pertenece al grupo de los OPs y es uno de los insecticidas más utilizados en el mundo (Solomon *et al.*, 2014), tiene una muy baja solubilidad en

agua (2 mg L^{-1}), pero es fácilmente soluble en la mayoría de los solventes orgánicos (Racke *et al.*, 1990; Maya *et al.*, 2011).

Este plaguicida tiene un amplio espectro y toxicidad moderada con una vida media (persistencia) de 10 a 120 días en el medio ambiente (Maya *et al.*, 2011), uno de sus productos de degradación es el 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), el cual es un metabolito tóxico y antimicrobiano de amplio espectro (Mauriz *et al.*, 2007), que posteriormente se degrada a compuestos organoclorados y dióxido de carbono (Testai *et al.*, 2010).

El TCP se considera uno de los principales productos de degradación del clorpirifós (Yang *et al.*, 2005) y exhibe una alta capacidad de degradación, alta solubilidad en agua y alta capacidad de migración (Lei *et al.*, 2017), es moderadamente móvil debido a su mayor solubilidad en agua, lo que provoca la contaminación generalizada en suelos y en el medio acuático (Yang *et al.*, 2005). También TCP tiene actividad antimicrobiana, con una vida media que oscila entre 65 y 360 días en el suelo (Maya *et al.*, 2011).

En Chile, en octubre de 2022 se han prohibido los plaguicidas a base de clorpirifós, ya sea la importación y fabricación de los plaguicidas que contengan este ingrediente activo (SAG, 2022), aunque cabe mencionar que, a pesar de la prohibición, aún estaría permitida la distribución, exportación, venta, o utilización de estos plaguicidas por un período máximo de dos 2 años.

Los plaguicidas pueden ingresar a los suelos de diferentes formas como aplicaciones directas, derrames, entre otros (Sánchez y Ortiz, 2011) lo cual causa que los suelos sean altamente susceptibles a ser contaminados, debido a que estos compuestos pueden favorecer la degradación de estos suelos, y tener una repercusión para que estos cumplan adecuadamente sus funciones (Leal *et al.*, 2014).

Un suelo contaminado es aquel que se encuentra en presencia de un químico o una sustancia fuera de sitio y/o presente en una concentración más alta de lo normal, que tiene efectos adversos sobre cualquier organismo al que no está destinado (Pennock y McKenzie, 2015).

Para mitigar y reducir la toxicidad producida por OPs en suelos encontramos la biorremediación, las tecnologías de biorremediación de suelos contaminados fueron desarrolladas para acelerar el proceso natural de la recuperación de suelos. Este efecto es logrado mediante la optimización de la capacidad natural de microorganismos para degradar un contaminante (Rubilar, 2007).

Se han reportado estudios basados en técnicas de biorremediación basados en aplicaciones de microorganismos como hongos y bacterias (Hernández *et al.*, 2017). Los microorganismos transforman y metabolizan aeróbicamente los compuestos orgánicos como los OPs hasta dióxido de carbono y agua (Gonzales, 2016).

Otra vía de biorremediación dirigida a la degradación de OP es mediante el uso de lombrices, estos anélidos son considerados verdaderos ingenieros del suelo (Jouquet *et al.*, 2006) ya que su actividad excavadora aumenta la aireación del suelo, porosidad, drenaje y fertilidad (Araneda, 2016). En relación con la toxicidad debido a plaguicidas, la interacción de la lombriz con el suelo se traduce en una exposición continua a los contaminantes presentes en este compartimento ambiental (Araneda, 2016). Este organismo se ha utilizado como bioindicador de la contaminación del suelo, lo que quiere decir que cambios en la abundancia y diversidad de las poblaciones de lombrices han sido positivamente correlacionados con el nivel de contaminación del suelo (Sanchez-Hernandez, 2006).

Recientes estudios demuestran que *Eisenia fetida* presenta un desempeño positivo en el proceso de degradación de OP, y que en combinación con los microorganismos del suelo desempeñan un papel de sinergismo frente a este proceso (Gonzales, 2016). Se ha demostrado que las lombrices de tierra inducen actividades enzimáticas extracelulares del suelo, y que esta característica particular ha sido la base de una estrategia biológica para remediar suelos contaminados por plaguicidas (Rodriguez-Campos *et al.*, 2014).

Este mecanismo puede involucrar la actividad hidrolítica de dos esterasas, las cuales son carboxilesterasa y acetilcolinesterasa (Araneda, 2016).

La acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima del grupo de las hidrolasas que está presente en la mayoría de los seres vivos (Galindo-Guzmán *et al.*, 2019), la

inhibición de la actividad enzimática de AChE ha sido el método más rápido y simple para evaluar la exposición de los organismos a los OP, debido a que estos plaguicidas son inhibidores de este grupo de enzimas en forma irreversible (Marrero *et al.*, 2017).

Otra enzima relacionada a la toxicidad de suelos es la carboxilesterasa (CE), esta constituye un grupo de enzimas presentes en tejidos de vertebrados e invertebrados capaces de hidrolizar una amplia variedad de ésteres (Picco *et al.*, 2010).

La inhibición de las CE por compuestos OP es considerada irreversible y la actividad enzimática se recupera generalmente por síntesis de nuevas enzimas (Thompson y Richardson, 2003). Recientes estudios sugieren que la actividad de CE en el suelo puede proporcionar un sistema de desintoxicación, y que las lombrices de tierra podrían contribuir a maximizar este servicio ambiental (Sanchez-Hernandez *et al.*, 2014).

En los últimos años se ha hecho un enfoque en la interacción entre la actividad enzimática de lombrices en conjunto con biocarbón para la desintoxicación de suelos. El biocarbón es un material sólido rico en carbono el cual se obtiene por la conversión termoquímica de materia orgánica en un ambiente limitado o carente de oxígeno (Pérez *et al.*, 2021), este posee propiedades físicas y químicas aptas para el almacenamiento de carbono a largo plazo en un medio natural y mejorar la fertilidad del suelo (Ibarrola *et al.*, 2013).

Algunas de sus aplicaciones pueden incluir el uso de biocarbón como mejorador del suelo, componente fertilizante (Ngo *et al.*, 2013) o como un portador microbiano para la degradación de contaminantes (Zhu *et al.*, 2017). Entre las diferentes materias primas utilizadas para la elaboración de biocarbón, podemos encontrar estiércol de cerdo, cama de aves de corral (Muñoz *et al.*, 2019), estiércol de vaca o paja de trigo (Zhao *et al.*, 2013).

Considerando componentes como lombrices y biocarbón para remediar los suelos, es que nace el concepto de “vermichar”, lo que se considera como un enfoque integrado de biorremediación que combina varios métodos complementarios con el fin de disipar pesticidas en el suelo (Masciandaro *et al.*, 2013). Sanchez-Hernandez *et al.* (2019) sugieren que la aplicación de vermichar

puede ser una estrategia adecuada para inactivar OPs, debido a que resultados recientes sugieren que la inoculación conjunta de biocarbón y lombrices incrementa la capacidad de detoxificación de suelos agrícolas contribuyendo a la recuperación de los suelos frente a OPs.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelo. El suelo proviene del Centro-Sur de Chile y está clasificado según Stolpe (Stolpe, 2006) como un Andisol de origen volcánico clasificado como medial, amorphous, thermic Humic Haploxerands, perteneciente a la Serie Arrayán. El suelo fue colectado de la Estación Experimental El Nogal de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción. El suelo fue colectado a una profundidad de 0-15 cm y presenta un pH de 6,5; un contenido de materia orgánica de 8,4% y con análisis de textura que indica 20% arena, 49% de limo y 31% de arcilla. Esta zona se caracteriza por un clima mediterráneo templado, con una temperatura media anual de 14 °C y una precipitación media anual que varía alrededor de los 1200 mm (Climate-Data.org, 2021).

Elaboración de vermichar. Las materias primas que se utilizaron corresponden a bagazo de uva obtenido desde una empresa local de procesamiento de uva para elaboración de vino, ubicada en la comuna de Quillón, Chile. El material fue secado al aire, almacenándose en seco y en frío hasta análisis. En la Tabla 2, se muestran las propiedades químicas correspondientes al bagazo.

Se incorporaron lombrices *Eisenia fétida* también conocida como lombriz roja californiana, las que se obtuvieron desde lechos de crecimiento del Laboratorio de Materiales Carbonosos y Agricultura de la Universidad de Concepción. Se utilizaron en una dosis equivalente a 50 lombrices por kg de sustrato, se mantuvieron en cámaras climatizadas a 20 °C y en oscuridad durante 5 meses. Al final del período se cosechó el producto estabilizado por la acción de las lombrices, mediante una trampa de residuos frescos envueltos en una malla, para así atraerlas y separar el vermicompost y vermichar mediante un tamizado a 2 mm.

Tabla 2. Propiedades de materiales utilizados en el estudio.

Material	pH	N Total (*)	C Total (*)	C:N	NO ₃ ⁻ (**)	NH ₄ ⁺ (**)	K (*)	P (*)
Bagazo	6,7	18,0	530,5	30,1	25,50	79,8	11,3	2,7
BC Pino	5,7	2,8	841,5	300,5	0,38	0,6	0,3	1,6
BC Cerdo	8,2	33,9	418,8	12,4	7,86	9,6	16,2	13,2
VC	5,0	--	472,2	--	1325,6	85,1	22,4	3,5

* g kg⁻¹; ** mg kg⁻¹

Elaboración de biocarbón. Se utilizaron dos tipos de residuos para producir biocarbón, siendo residuos de madera de pino y estiércol de cerdo. Se aplicó un proceso de pirólisis lenta con una temperatura máxima de calentamiento de 500 °C durante 2 horas en un equipo de pirólisis de fabricación local. El biocarbón producido se tamizó a través de una malla de 250 µm y se mantuvo a temperatura ambiente. La dosis de biocarbón fue de 5% y se mezcló manualmente con el sustrato de bagazo de uva y se le introducen las lombrices antes mencionadas. La vermicompostera se mantuvo durante 6 meses en incubación.

Ensayo. En envases tipo clamshell con 500 g de suelo, se dispusieron los tratamientos indicados en la Tabla 3, teniendo 3 repeticiones cada uno.

Tabla 3. Identificación de los tratamientos del estudio.

Tratamientos	Composición
Control	Suelo control absoluto
VC	Suelo + vermicompost
VCHAR P	Suelo + vermichar de pino
VCHAR C	Suelo + vermichar de cerdo
Control + OP	Suelo + organofosforado
VC + OP	Suelo + vermicompost + organofosforado
VCHAR P + OP	Suelo + vermichar de pino + organofosforado
VCHAR C + OP	Suelo + vermichar de cerdo + organofosforado

El suelo a utilizar se secó al aire, se tamizó en una malla de 2 mm y posteriormente se acondicionó al 60% de los espacios de poros llenos de agua (WFPS). El vermicompost y vermichar se mezcló con el suelo (500 g) en una dosis de 5% (25 g) y luego se depositó en los clamshell, después de 9 días se aplicó el OP.

El plaguicida OP correspondió a Clopirifós 48% CE (nombre comercial), con clorpirifós como ingrediente activo. Se utilizó en una dosis equivalente a 0,5 mL en 40 mL de agua para 1 m², según su dosis comercial máxima. Se aplicó en forma de rociado, mediante un pulverizador por sobre la superficie de suelo, la aplicación se realizó en campo bajo todas las precauciones necesarias (guantes, mascarilla, antiparras, entre otros), y distribuyendo los envases clamshell en 1 m².

Los tratamientos se mantienen en una cámara climatizada a 20 °C durante 45 días y se les repuso el agua periódicamente con agua destilada durante todo el ensayo; para mantener una condición constante de WFPS al 60%.

Actividad carboxilesterasa (CE). Se extrajeron muestras de 10 g de suelo por cada repetición a los 15, 30 y 45 días, se dispusieron en tubos Falcon y se mantuvieron almacenadas en frío (4 °C) hasta el momento del análisis, el cual fue realizado en el laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Chillán. La actividad enzimática se determinó en suspensiones suelo-agua 1:50 (p/v) según Sánchez-Hernández *et al.* (2015). Un gramo de suelo húmedo y 50 mL de agua destilada se homogeneizaron durante 30 min a temperatura ambiente (20 °C aprox) en tubos Falcon en un agitador orbital. La actividad CE se determinó usando el sustrato butirato de 4-nitrofenilo (4-NPB). La mezcla de reacción consistió en 350 µL de Tris-HCl 0,1 M (pH = 7), 100 µL de suspensión suelo-agua y 50 µL de sustrato (50 Mm). Luego de una incubación de 20 minutos en la oscuridad, se determinó la presencia de 4-NPB tras la adición de 500 µL de una solución de dodecil sulfato de sodio (SDS) (2% p/v) y Tris (2% p/v), se centrifugó a 6000 rpm por 5 min y luego se determinó la absorbancia mediante espectrofotómetro UV-VIS (Rayleigh UV-1601, China) a 412 nm. La actividad enzimática se expresó en µmol h⁻¹ g suelo seco⁻¹.

Al analizar en cada fecha de muestreo las diferencias que se obtuvieron, para calcular el porcentaje de cambio con respecto al tratamiento Control o de Control + OP, se usó la Fórmula 1 que se explica a continuación.

[Fórmula 1]

Porcentaje de cambio = $[(\text{Valor Tratamiento} - \text{Valor Control}) / \text{Valor Control}] \times 100\%$

Luego, se determina el comportamiento de cada tratamiento a lo largo del tiempo. Los porcentajes se calculan utilizando la fórmula de cambio porcentual con respecto al valor inicial (Fórmula 2), que compara la diferencia entre dos valores, con el valor inicial en este caso, como la actividad CE en el día 15.

[Fórmula 2]

Cambio porcentual = $[(\text{Valor Final} - \text{Valor Inicial}) / \text{Valor Inicial}] \times 100\%$

En donde "Valor Final" es el valor de la variable en el momento final (en este caso, Día 45) y "Valor Inicial" es el valor de la variable en el momento inicial (en este caso, Día 15).

Residuos de plaguicidas en suelo. Se extraen muestras de 100 g de suelo por cada unidad experimental a los 15, 30 y 45 días de incubación, se dispusieron en bolsas de plástico y se congelaron, para así ser transportadas a la Universidad de La Frontera, Temuco, donde se realizó el análisis. Este análisis se realizó mediante el método de extracción sólido-líquido, el cual consiste en obtener 10 g de suelo húmedo los cuales se extraen con 20 mL de etanol, luego se centrifugaron a 9000 g por 10 min. El sobrenadante se filtró con un filtro PTFE de 0,22 μm , y se procedió a una inyección de las muestras en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con serie de diodos (Shimadzu Prominence LC-20AT, Japón). Los resultados se expresan en contenido de clorpirifós y del metabolito 3,5,6-tricloro-2-piridinol TCP en $\text{mg kg suelo seco}^{-1}$ (Briceño *et al.*, 2020).

Análisis de datos. El diseño experimental correspondió a un diseño completamente al azar, con ocho tratamientos y tres repeticiones cada uno. Los datos fueron evaluados mediante análisis de varianza o ANDEVA ($\alpha = 0,05$), con previa comprobación de los supuestos de normalidad (test de Shapiro-Wilks) y de homogeneidad de varianzas. Comparaciones múltiples por test de LSD Fisher ($p \leq 0,05$). Los análisis se realizaron usando el software InfoStat versión 2020.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad de carboxilesterasa (CE). La actividad de CE en el suelo es un factor clave en la persistencia y la tasa de degradación del clorpirifós. Las enzimas carboxilesterasas (CE) son hidrolasas que detoxifican los plaguicidas organofosforados (OP) mediante una desintoxicación no catalítica (Chambers *et al.*, 2010), tal desintoxicación ocurre por la fosforilación del sitio activo de la CE por el metabolito oxon altamente tóxico de los plaguicidas OP, formando así un complejo inhibidor de enzima estable y, en consecuencia, inactivando el pesticida (Wheelock y Nakagawa, 2010). Algunos estudios sugieren que la enzima CE proporciona un sistema de desintoxicación en suelos contaminados con OP. Esta esterasa ha sido muy sensible al clorpirifós, y este mecanismo basado en la inhibición puede, por lo tanto, reducir biodisponibilidad y toxicidad de estos plaguicidas (Sanchez-Hernandez *et al.*, 2015).

El suelo control corresponde al nivel basal de actividad de CE en suelos no tratados con OP, por lo que es importante tener este valor como referencia para comparar con otros tratamientos. Para el día 15 después de la aplicación de OP, el suelo que presentó una mayor actividad CE fue VCHAR P + OP con un valor de $1902,6 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g suelo}^{-1}$, teniendo un 29,3% mayor actividad que el suelo control y un 45,3% mayor al suelo control + OP. Sin embargo, el tratamiento con la menor actividad fue VC con $1058,13 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g suelo}^{-1}$, el cual fue significativamente menor al suelo control presentando un 28,1% menos de actividad. Respecto al VCHAR P y VCHAR C presentaron similar actividad que VC sin diferencia estadística entre ellos, siendo iguales que el control.

Comparando los tratamientos con vermichar de pino y vermichar a base de cerdo después de haber sido aplicado con OP, se obtuvo que el vermichar de pino (VCHAR P + OP) tiene un efecto significativamente positivo en la recuperación de la actividad CE si lo contrastamos con el suelo control con y sin OP.

Al día 30, el tratamiento con una mayor actividad enzimática corresponde a VCHAR P con $1737 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g suelo}^{-1}$, presentando un 38,7% mayor al suelo control, mientras que los otros tratamientos no mostraron diferencias significativas entre ellos y los controles con un promedio de $1337,61 \mu\text{mol h}^{-1} \text{g suelo}^{-1}$. Los tratamientos

con aplicación de OP no presentan diferencias significativas respecto al control sin OP y al control + OP. Cuando se aplica OP al suelo no se observa una disminución en la actividad CE en comparación con el control sin OP, lo que indica que no hubo un impacto del plaguicida evidenciado en una alteración de la actividad de esta enzima a los 30 días de incubación.

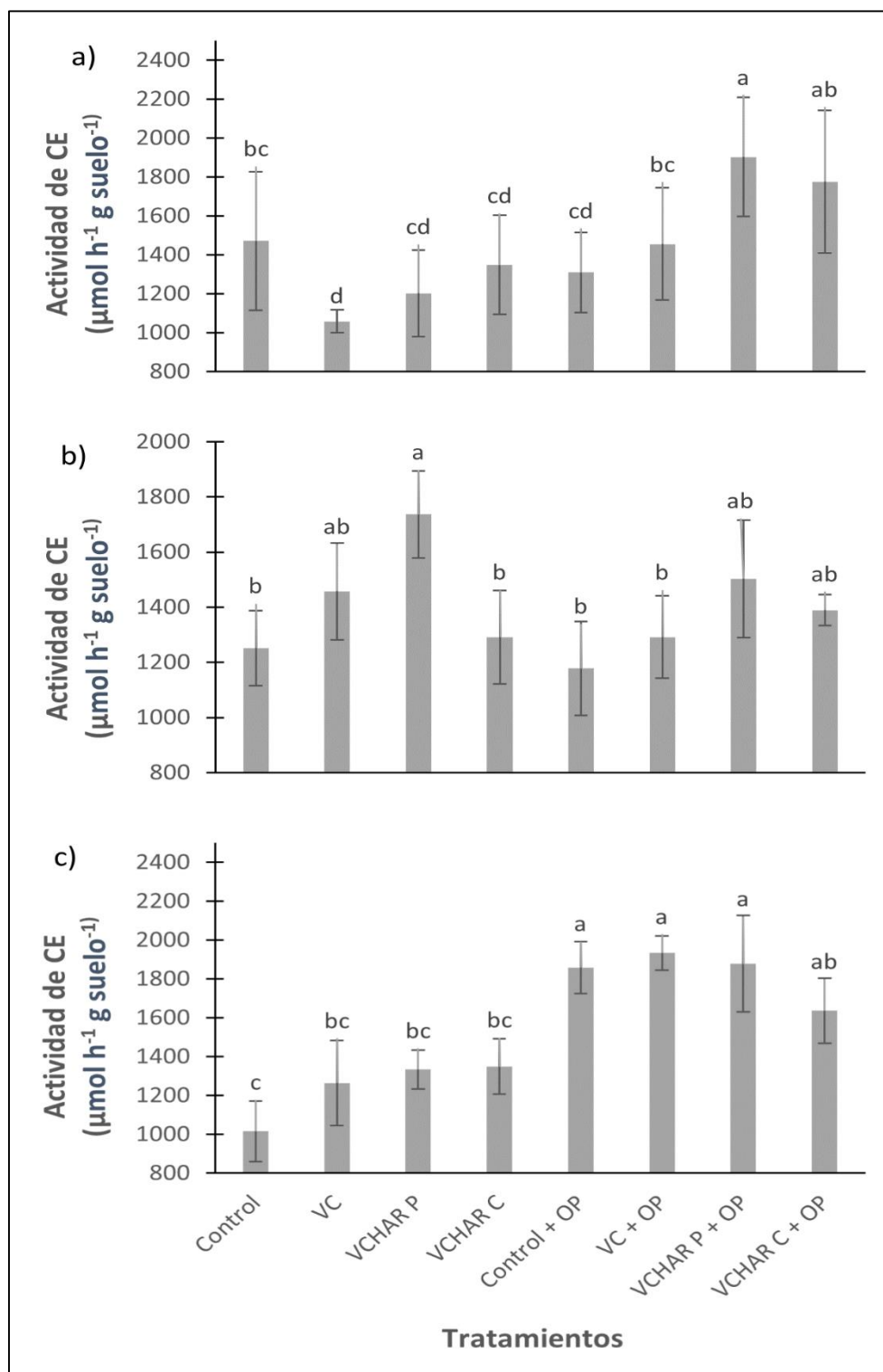
Transcurridos los 45 días, todos los tratamientos que recibieron OP tuvieron mayor actividad CE que los suelos sin OP; siendo todos iguales estadísticamente. Obteniéndose un rango de valores desde 1933 $\mu\text{mol h}^{-1} \text{ g suelo}^{-1}$ en VC + OP siendo un 90,4% mayor al suelo control, hasta 1637 $\mu\text{mol h}^{-1} \text{ g suelo}^{-1}$ es decir 61,2% en VCHAR C + OP.

No se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos sin OP, pero cabe mencionar que los tratamientos con enmiendas orgánicas (VC, VCHAR P, VCHAR C) muestran una actividad ligeramente mayor que el control, lo que podría deberse a la introducción de materia orgánica en el suelo, que suele estimular la actividad de enzimas que descomponen compuestos orgánicos. Sin embargo, la diferencia es menos pronunciada en comparación con los tratamientos con OP. Cuando se aplica clorpirifós al suelo, la actividad CE aumenta significativamente en todos los tratamientos en comparación con los tratamientos sin clorpirifós.

Estos resultados sugieren que el clorpirifós tiene un impacto dominante en el aumento de la actividad CE en el suelo en todos los tratamientos ya transcurridos los 45 días post aplicación de OP, incluso en aquellos con enmiendas orgánicas. La adición de enmiendas orgánicas, si bien puede estimular la actividad enzimática en el suelo, no parece influir significativamente en la respuesta del suelo a la presencia de clorpirifós en este periodo de tiempo.

Al analizar los cambios de la actividad de la CE en el tiempo, se obtuvo una disminución del 31% de actividad CE en el suelo control a través del periodo de 45 días. A la primera medición, la actividad enzimática en el control es la más alta en comparación con los otros tratamientos sin OP, aunque a los 30 días ya disminuye en un 14,9%, y en la última medición esta actividad sigue disminuyendo, llegando a ser la menor actividad entre todos los tratamientos.

Figura 1. Actividad de CE en un suelo con aplicación de clorpirifós en diferentes tiempos de incubación 1a) 15 días, 1b) 30 días y 1c) 45 días.



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$). Barras de error $\pm$ desviación estándar ($n = 3$).

El tratamiento con VC presentó un aumento total del 19,5%. La actividad CE en el suelo con vermicompost es inicialmente más baja que en el suelo control, lo que podría deberse a la influencia de los compuestos orgánicos en el vermicompost en la actividad enzimática, en la medición al día 30 la actividad aumenta y supera al suelo control, pero en la medición final disminuye nuevamente.

En cuanto al VCHAR P se demostró un alza del 11% a lo largo de los 45 días. Al principio la actividad es similar a la del suelo control, a los 30 días aumenta significativamente en comparación al control y en el último punto temporal la actividad disminuye sin presentar diferencias significativas con el día 15, aunque sigue siendo más alta que en el suelo control.

El suelo con VCHAR C no muestra variación en el periodo total evaluado. A la primera medición la actividad es similar a la del suelo control, a los 30 días esta disminuye levemente, pero sigue siendo comparable a la del suelo control, y al final la actividad sube para llegar a un valor muy similar a la del día 15.

El suelo Control + OP presentó un incremento significativo del 41,9% en la actividad CE entre el día 15 y 45 de incubación. La actividad disminuye al día 30, pero luego experimenta un aumento en el día 45 en comparación con el día 15. Esto podría indicar una respuesta inicial al clorpirifós seguida de una recuperación o adaptación posterior en la actividad enzimática. A diferencia del suelo control que presenta un declive en su actividad CE a los 45 días, el suelo control + OP presenta el mayor aumento de actividad CE de todos los tratamientos, lo que indica una notable respuesta enzimática a la aplicación de este plaguicida. Esto podría atribuirse a que algunos microorganismos presentes en el suelo pueden responder a la presencia de contaminantes como los plaguicidas al aumentar su actividad metabólica para descomponer o degradar el compuesto. Esto incrementaría la actividad CE.

El tratamiento VC + OP a los 45 días demostró un aumento del 32,8% en la actividad CE. A los 30 días disminuye en un 11,3%, para luego a la última medición mostrar un aumento, indicando un comportamiento similar al Control + OP, lo que sugiere una respuesta inicial al plaguicida, seguida de una recuperación de la actividad.

En el caso del suelo con VCHAR P + OP se pudo observar una disminución del 1,3% en el periodo total. La actividad disminuye al día 30, para luego mostrar un alza a los 45 días, llegando a un valor similar al de la primera medición. Esto se atribuye a que la capacidad de retención del vermichar de pino, que puede servir como matriz de retención o generar un ambiente favorable para las enzimas en el suelo, lo que podría ayudar a mantener una actividad CE constante.

Para el tratamiento VCHAR C + OP se presentó una baja del 7,8% durante el periodo total. Se puede observar una baja desde los 15 hasta los 30 días, sin embargo, al día 45 ya se puede notar un aumento en la actividad CE, un comportamiento semejante al VCHAR P + OP. Estos porcentajes reflejan la variación en la actividad CE en cada tratamiento en relación con el valor inicial en el día 15.

En resumen, la actividad CE muestra una variación temporal significativa, indicando que el tiempo es un factor crucial en la respuesta del suelo. Los resultados muestran una variabilidad en la respuesta a la aplicación de clorpirifós según la presencia o ausencia de enmienda orgánica utilizada. Esto es consistente con la idea de que la actividad CE en los suelos puede ser influenciada por factores como la composición del sustrato y su capacidad para desintoxicar o degradar los plaguicidas. La disminución de la actividad CE en el tratamiento control se podría explicar a una respuesta inicial al clorpirifós que posteriormente disminuye a medida que el plaguicida se descompone. Por otro lado, en el control + OP, la presencia de clorpirifós puede haber estimulado una respuesta continua y adaptativa en la actividad enzimática.

Sanchez-Hernandez y Sandoval (2017) señalan que, aunque la capacidad de desintoxicación de CE ya ha sido demostrada por Sanchez-Hernandez *et al.* (2015) utilizando suelos alterados por lombrices, los autores dejaron abierta la posibilidad de que dicha interacción química también ocurra en suelos libres de lombrices, donde la actividad de CE es principalmente de origen microbiano y no derivada de lombrices. Nuestros hallazgos corroboran la afirmación indicada anteriormente, donde en suelos perturbados sin presencia de lombrices de tierra, hubo una alta actividad CE producida por biomasa microbiana.

Sanchez-Hernandez *et al.* (2021) indicó que la adición de biocarbón provocó un aumento significativo de la actividad CE del suelo con respecto al control sin biocarbón. Sin embargo, el aumento de la actividad de las enzimas del suelo no dependió del tipo de biocarbón. Este resultado contrasta con investigaciones anteriores (Sanchez-Hernandez, 2018), en los que la adición de biocarbón derivado de pino o café molido disminuyó o no alteró la actividad CE del suelo.

Los datos actuales demuestran que la actividad CE del suelo es un indicador bioquímico adecuado de la contaminación por pesticidas OP y, a su vez, su inhibición por estos compuestos es un mecanismo de desintoxicación significativo de los metabolitos de clorpirifós (Sanchez-Hernandez y Sandoval, 2017).

Determinación de clorpirifós. El clorpirifós es moderadamente persistente en suelos y su vida media suele oscilar entre 60 y 120 días, pero puede variar desde 2 semanas hasta más de 1 año, dependiendo del tipo de suelo, clima y otras condiciones (Gilani *et al.*, 2010). Una amplia gama de pesticidas son degradados lentamente por los microorganismos, por lo que se están realizando esfuerzos para aumentar la capacidad de degradación de los microorganismos (Sud *et al.*, 2020).

Para este análisis, solo se hizo enfoque en los tratamientos que recibieron la aplicación de OP. Los análisis de las muestras sin OP fueron realizados para determinar si el suelo y materias primas utilizadas contenían alguna traza de este compuesto, los resultados se pueden observar en la Tabla 4. Se procedió a analizar la evolución y degradación de la concentración de clorpirifós durante los 45 días en cada tratamiento, por lo que este análisis contempla el periodo completo de mediciones realizadas en el estudio.

Se determinó una disminución del 46% en la concentración de CP en el suelo Control + OP a través del periodo evaluado, con una diferencia significativa entre la primera y la última medición, en la primera medición se detecta un valor de 34,14 mg kg suelo⁻¹. A los 30 días, la concentración disminuyó a 27,2 mg kg suelo⁻¹, lo que representa una disminución del 20,3%, y en el día 45 bajo a 18,44 mg kg suelo⁻¹. Esto indica que, en ausencia de cualquier enmienda o biocarbón, la degradación natural o la absorción de clorpirifós en el suelo disminuye su concentración con el tiempo.

El tratamiento VC + OP presentó una disminución del 40,8% a contar del día 15 al día 45. Al día 15 la concentración es de 35,51 mg kg suelo⁻¹, en la medición intermedia la concentración disminuyó a 27,96 mg kg suelo⁻¹, lo que representa una disminución del 21,1% en comparación con los 15 días. A los 45 días, la concentración continuó disminuyendo a 21,03 mg kg suelo⁻¹.

Tabla 4. Concentración de CP (mg kg suelo⁻¹) en los 15, 30 y 45 días post aplicación.

Tratamientos	Día 15	Día 30	Día 45	p-valor
Control	0,33	0	0	-
VC	0,57	0,35	0,46	-
VCHAR P	0,61	0,5	0,47	-
VCHAR C	0,53	0,9	0	-
Control + OP	34,14 ± 1,74 a	27,2 ± 1,73 a	18,44 ± 6,78 b	≤ 0,05
VC + OP	35,51 ± 7,04 a	27,96 ± 1,74 ab	21,03 ± 5,38 b	≤ 0,05
VCHAR P + OP	29,32 ± 5,81 a	23,55 ± 1,11 ab	19,66 ± 3,01 b	≤ 0,05
VCHAR C + OP	42,94 ± 5,9 a	34,86 ± 4,97 ab	26,96 ± 3,71 b	≤ 0,05

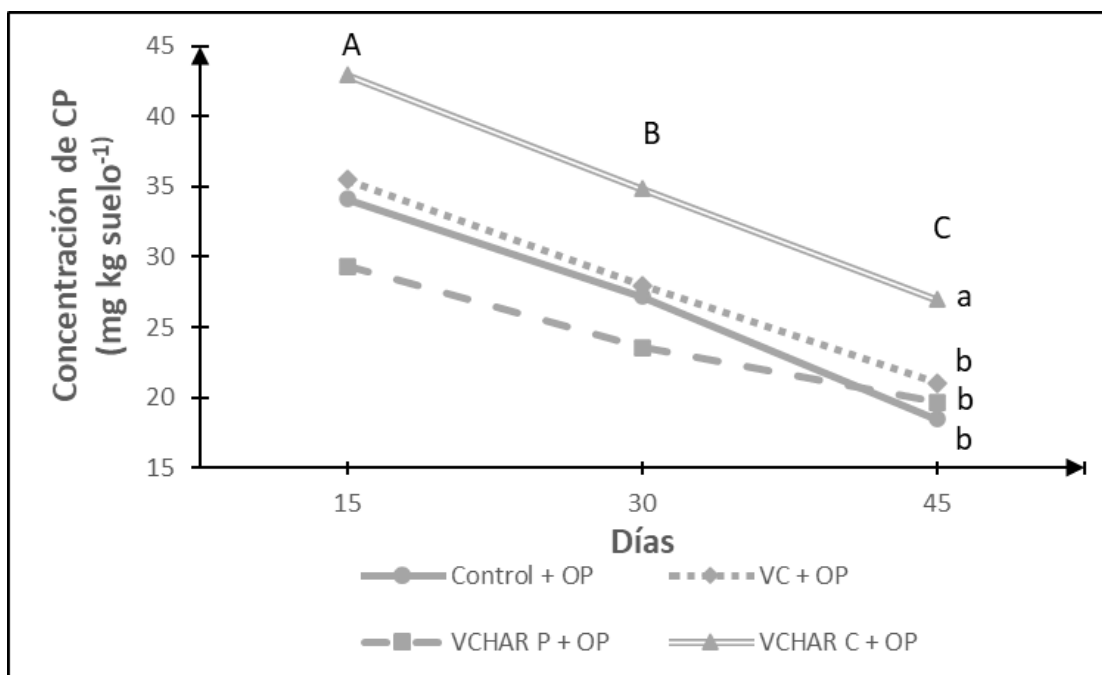
Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento durante las diferentes fechas de muestreo. Según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$). Media ± desviación estándar (n = 3).

En cuanto al VCHAR P + OP, este tratamiento demostró una baja significativa del 32,9% durante el periodo evaluado, comenzó a los 15 días con una concentración de 29,32 mg kg suelo⁻¹, luego en la siguiente medición disminuyó a 23,55 mg kg suelo⁻¹, y a los 45 días disminuyó a 19,66 mg kg suelo⁻¹. No parece haber una diferencia sustancial en la disminución en comparación con el Control + OP, lo que sugiere que el tipo de enmienda utilizada puede no estar teniendo un impacto significativo en la degradación del clorpirifós.

En el caso del suelo con VCHAR C + OP, presenta una disminución del 37,2% a lo largo del estudio, en la primera medición a los 15 días se encuentra una concentración de 42,94 mg kg suelo⁻¹, luego disminuye a 34,86 mg kg suelo⁻¹, para finalmente al día 45 llegar a un valor de 26,96 mg kg suelo⁻¹.

Luego se procedió a evaluar cada periodo de tiempo por separado (Figura 2), realizando una comparación de cada tratamiento con el suelo control + OP.

Figura 2. Concentración de clorpirifós en tratamientos a los 15, 30 y 45 días post aplicación.



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas al día 45 entre tratamientos según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre días según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$).

A los 15 días se puede apreciar que VCHAR P + OP tiene la menor concentración de clorpirifós con $29,32 \text{ mg kg suelo}^{-1}$, demostrando una reducción del 14,1% en la concentración en comparación con el Control + OP, el cual tiene un valor de $34,14 \text{ mg kg suelo}^{-1}$. El biocarbón de pino mezclado con vermicompost puede estar contribuyendo a una mayor adsorción del clorpirifós, reduciendo su disponibilidad en el suelo en este periodo de tiempo. El tratamiento que expone la mayor concentración a este tiempo corresponde a VCHAR C + OP con un valor de $42,94 \text{ mg kg suelo}^{-1}$, lo que muestra un aumento del 25,8% en relación con el suelo control + OP. En el tratamiento con VC + OP, la concentración de clorpirifós es de $35,51 \text{ mg kg de suelo}^{-1}$, siendo un 2,9% mayor al suelo control + OP. Esto indica que la presencia de vermicompost no ha tenido un efecto considerable en la reducción de

la concentración de clorpirifós en comparación con el tratamiento control a los 15 días después de la aplicación del plaguicida.

A los 30 días, el tratamiento que presenta la menor concentración de clorpirifós al igual que a los 15 días es VCHAR P + OP, con 23,55 mg kg de suelo⁻¹, lo que se traduce en una disminución del 13,4% en comparación al suelo control + OP que muestra 27,2 mg kg de suelo⁻¹. Aunque este tratamiento es menor en comparación con los otros tratamientos, no se encuentran diferencias significativas entre ellos. El tratamiento que muestra la mayor concentración de clorpirifós en este periodo es nuevamente VCHAR C + OP, con 34,86 mg kg de suelo⁻¹, superando en un 28,2% al suelo control + OP. Se puede notar un comportamiento de los tratamientos muy similar a la medición del día 15, en donde VCHAR P + OP presenta la menor y VCHAR C + OP la mayor concentración en relación con el control + OP. En cuanto al suelo con VC + OP, este tratamiento muestra un aumento del 2,8% en contraste al suelo control, variación muy similar a los 15 días.

Para el día 45, el Control + OP corresponde a la concentración más baja entre los 4 tratamientos estudiados, mostrando un valor de 18,44 mg kg suelo⁻¹. Mientras que la concentración más alta se volvió a encontrar en el suelo con VCHAR C + OP con un 26,95 mg kg suelo⁻¹, ósea un 46,2% mayor al control + OP siendo este el único tratamiento distinto significativamente a los demás. El suelo VC + OP presento un 14% de mayor concentración en este periodo, en comparación al control + OP. El tratamiento VCHAR P + OP tiene un valor de 19,66 mg kg suelo⁻¹, siendo el tratamiento más bajo en contraste al control + OP. La concentración es similar a la del Control + OP, lo que podría indicar que este tipo específico de vermichar no ha tenido un impacto significativo en la concentración de clorpirifós en el periodo total del estudio.

En resumen, los resultados sugieren que la degradación y la evolución de la concentración de clorpirifós en el suelo están influenciadas por múltiples factores, incluyendo la presencia de enmiendas como el vermicompost y el tipo de material orgánico utilizado.

Gilani *et al.* (2010) señala que los datos registrados después de 6 meses y 12 meses para el CP perteneciente al grupo de los OP mostraron que permaneció

estable incluso después de un año en el suelo. No se encontró degradación en el pesticida ya que se obtuvo una recuperación del 100 % del ingrediente activo en los tratamientos mantenidos hasta un año. Se han informado resultados similares anteriormente sobre este grupo de pesticidas que mostraron una persistencia del 100% (Shahida *et al.*, 2004).

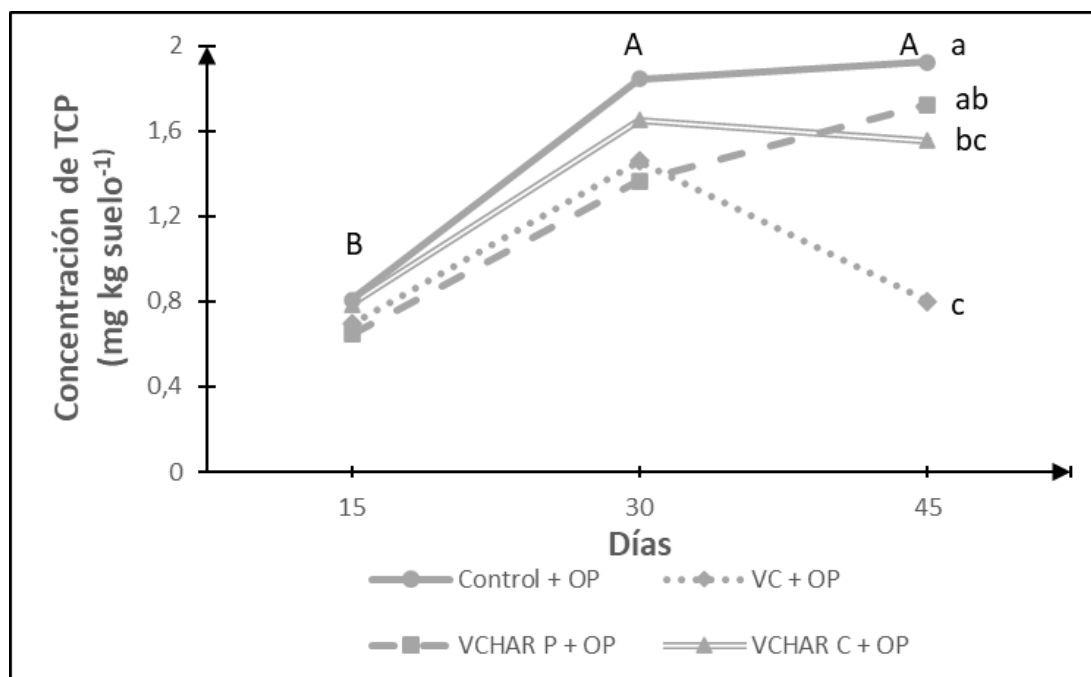
Estos porcentajes indican una tendencia general hacia la disminución de la concentración de clorpirifós en el suelo a lo largo del período de estudio en todos los tratamientos.

Determinación de 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP). La principal vía de degradación de CP implica la hidrólisis a TCP (Abraham *et al.*, 2013). El TCP es más tóxico que su compuesto original, ya que tiene propiedades antimicrobianas que inhiben el crecimiento microbiano (Briceño *et al.*, 2016), llegando a tener una vida media en el suelo de hasta 360 días (Deng *et al.*, 2016). La degradación biótica es una de las opciones más viables para la desintoxicación de CP y TCP en el suelo y el agua (Chishti *et al.*, 2013).

En el día 15, el tratamiento que presentó la menor concentración de TCP en comparación con el tratamiento de Control + OP fue el tratamiento VCHAR P + OP, con una concentración de 0,65 mg kg suelo⁻¹. Esto representa una disminución del 20,1% en comparación con el tratamiento de Control + OP (0,81 mg kg suelo⁻¹), el cual presentó la mayor concentración de TCP en este periodo, sin embargo, no se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos. En el suelo con VC + OP la concentración de TCP es de 0,69 mg kg suelo⁻¹, lo que representa una reducción del 14,1% en comparación con el tratamiento de Control + OP. Y en cuanto al VCHAR C + OP, la concentración en este tratamiento es de 0,79 mg kg suelo⁻¹, lo que implica una leve disminución del 2,4% en comparación con el tratamiento de Control + OP.

Se observa que la concentración de TCP es más baja en los tratamientos con enmiendas orgánicas, ya sea vermicompost (VC) o vermichar (VCHAR P y VCHAR C) en comparación con el tratamiento Control + OP. Esto sugiere que la adición de enmiendas orgánicas puede reducir la persistencia o la concentración de TCP en el suelo.

Figura 3. Concentración de TCP en tratamientos a los 15, 30 y 45 días post aplicación.



Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos al día 45, según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los días evaluados según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$).

A los 30 días, el tratamiento que presentó la menor concentración de TCP fue una al igual que el caso del clorpirifós, el VCHAR P + OP con una concentración de $1,37 \text{ mg kg suelo}^{-1}$. Esto representa una reducción del 26% de la concentración al comparar con el suelo Control + OP, presentando la mayor concentración en este periodo con $1,85 \text{ mg kg suelo}^{-1}$. El suelo con VC + OP tuvo una concentración de $1,46 \text{ mg kg suelo}^{-1}$, lo que representa una disminución del 20,9% en comparación con el tratamiento Control + OP. El VCHAR C + OP presenta una concentración de $1,65 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ lo que se traduce en una baja del 10,5% al contrastar con el suelo control + OP.

Los resultados sugieren que la enmienda de suelo con vermicompost (VC) y vermichar (VCHAR) puede tener un impacto positivo en la reducción de la concentración de TCP en comparación con el Control + OP. Además, la elección del tipo de vermichar (pino o cerdo) también parece influir en los resultados.

Al día 45, el tratamiento VC + OP muestra la menor concentración de TCP con 0,8 mg kg suelo⁻¹, representando una disminución significativa del 58,3% con relación al suelo control + OP, el cual presenta la mayor concentración en la última medición entre los tratamientos, con 1,92 mg kg suelo⁻¹. Esto podría sugerir que la adición de vermicompost al suelo puede reducir significativamente la concentración de TCP en el suelo tratado con clorpirifós. En el caso del suelo con VCHAR P + OP, se mostró una concentración de 1,72 mg kg suelo⁻¹, lo que se traduce en una baja del 10,4% en comparación al suelo control + OP. Con un valor de 1,55 mg kg suelo⁻¹, el VCHAR C + OP no muestra mucha diferencia en la concentración de TCP frente al suelo control + OP.

Tabla 5. Concentración de TCP (mg kg suelo⁻¹) en los 15, 30 y 45 días post aplicación.

Tratamientos	Día 15	Día 30	Día 45	p-valor
Control	0	0	0	-
VC	0	0	0	-
VCHAR P	0	0	0	-
VCHAR C	0	0	0	-
Control + OP	0,81 ± 0,06	1,85 ± 0,07	1,92 ± 1,17	0,16
VC + OP	0,69 ± 0,17 b	1,46 ± 0,11 a	0,8 ± 0,51 b	≤ 0,05
VCHAR P + OP	0,65 ± 0,11 b	1,36 ± 0,04 ab	1,72 ± 0,7 a	≤ 0,05
VCHAR C + OP	0,79 ± 0,06 b	1,65 ± 0,22 a	1,55 ± 0,02 a	≤ 0,05

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas por cada tratamiento en las distintas fechas de muestreo; según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$). Media ± desviación estándar ($n = 3$).

En cuanto a Control + OP, se puede observar un aumento de la concentración a lo largo del tiempo, sin embargo, no hay una diferencia significativa entre los días estudiados para este tratamiento.

La concentración de TCP en el tratamiento VC + OP aumenta significativamente de 0,69 mg kg suelo⁻¹ en el día 15 a 1,46 mg kg suelo⁻¹ en el día 30, y luego

disminuye significativamente a $0,8 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 45, no obstante, no hay diferencias significativas entre los días 15 y 45. Este tratamiento parece tener un efecto estabilizador en la concentración de TCP en comparación con el Control + OP, el cual va en aumento.

La concentración de TCP en el suelo con VCHAR P + OP aumenta de $0,65 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 15 a $1,36 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 30 y luego sigue aumentando a $1,72 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 45. Podemos notar una diferencia significativa entre el día 15 y el día 45. La variabilidad en la concentración de TCP es más marcada en este tratamiento, lo que puede deberse a la composición del vermichar de pino.

Para el VCHAR C + OP, la concentración aumenta significativamente de $0,79 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 15 a $1,65 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 30, y luego disminuye a $1,55 \text{ mg kg suelo}^{-1}$ en el día 45. Hay una diferencia altamente significativa ($p = 0,0003$) entre el día 15 y los días 30 y 45. La adición de vermichar con biocarbón a base de cerdo parece tener un efecto significativo en la concentración de TCP en el suelo.

Briceño *et al.* (2016) detectó TCP en todos sus tratamientos, y la tendencia mostró que se incrementó a través del tiempo, alcanzando una concentración máxima cercana a 0.3 mg kg^{-1} .

Los resultados son relevantes desde una perspectiva agrícola, ya que sugieren que la adición de enmiendas orgánicas, en particular el vermicompost, puede ser una estrategia eficaz para reducir la persistencia de los residuos de pesticidas en el suelo. Esto podría ser beneficioso para la gestión sostenible de plaguicidas y la protección del medio ambiente.

CONCLUSIONES

La actividad de la carboxilesterasa en suelos tratados con clorpirifós y enmiendas orgánicas revela respuestas diversas. El vermichar de cerdo mantuvo la estabilidad de esta enzima a través del tiempo.

El clorpirifós se degradó naturalmente en el suelo evaluado. Pero el uso combinado de vermicompost con biocarbón presentó una mayor degradación del metabolito tóxico 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), demostrando su efecto en acelerar su descomposición.

Se vislumbra el uso ambiental del vermicompost y biocarbón para la biorremediación de suelos contaminados con pesticidas. Aunque esta área de conocimiento aún está en progreso, nuestra investigación sugiere vías de acción para la desintoxicación de suelos afectados por plaguicidas organofosforados.

REFERENCIAS

1. Abraham, J., Shanker, A., Silambarasan, S. (2013). Role of *Gordonia* sp. JAAS1 in biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolyzing metabolite 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *Lett. Appl. Microbiol.* 57, 510-516.
2. Araneda, A. (2016). Uso de la lombriz de tierra como organismo indicador del impacto de pesticidas en el agrosistema. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Ambientales con Mención en Sistemas Acuáticos Continentales. Dirección de Postgrado. Universidad de Concepción, Chile.
3. Briceño, G., Lamilla, C., Leiva, B., Levio, M., Donoso-Piñol, P., Schalchli, H., Gallardo, F., Diez, M.C. (2020). Pesticide-tolerant bacteria isolated from a biopurification system to remove commonly used pesticides to protect water resources. *PLoS One* 15 (6).
4. Briceño, G., Diez, M.C. (2021). Sistema de biopurificación para el tratamiento de plaguicidas. En: Soluciones basada en la naturaleza para la descontaminación de descargas puntuales y difusas. Ediciones Universidad de Concepción ISBN 978-956-227-465-4. Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería. 53-83.
5. Briceño, G., Schalchli, H., Mutis, A., Benimeli, C.S., Palma, G., Tortella, G.R., Diez, M.C. (2016). Use of pure and mixed culture of diazinon-degrading *Streptomyces* to remove other organophosphorus pesticides. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 114, 193–201.
6. Cardona, A., Giraldo, L. (2008). Evaluación del grado de contaminación por pesticidas organofosforados de la cuenca del Río Otún, departamento de Risaralda. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. Química Industrial. 21-23.

7. Chambers, J.E., Meek, E.C., Chambers, H.W. (2010). The metabolism of organophosphorus insecticides. In: Krieger, R. (Ed.), Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. Elsevier, Netherlands, pp. 1399–1407.
8. Climate-Data.org (2021). Clima Chillán: Temperatura, Climograma y Tabla Climática. <https://es.climate-data.org/americadel-sur/chile/viii-region-del-biobio/chillan-2040/> [online].
9. Contraloría General de la República (CGR). (2021). Informe Final Servicio Agrícola Ganadero. Departamento del Medio Ambiente, Obras Públicas y Empresas, Unidad de Medio Ambiente. Informe n°174.
10. Deng, Y.F., Zhang, Y., Lu, Y.F., Zhao, Y.P., Ren, H.Q. (2016). Hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by the chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl metabolite, 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, in orally exposed mice. *Sci. Total Environ.* 544, 507–514.
11. FAO. (2017). Presentación y evaluación de datos sobre residuos de plaguicidas para la estimación de los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos, 3era Edición. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 167.
12. FAOSTAT. (2021). FAOSTAT Inputs/Pesticides. <https://www.fao.org/faostat/en/#search/Pesticides%20total> [online].
13. Fernández, D., Mancipe, L., Fernández, D. (2010). Intoxicación por organofosforados. *Revista Med.* 18 (1), 84-92.
14. Galindo-Guzmán, M., Flores-Loyola, E., Gallegos-Robles, M., Fortis-Hernández, M., Figueroa-Viramontes, U., Vázquez-Vázquez, C. (2019). Acetilcolinesterasa de *Eisenia foetida* como indicador de contaminación por plaguicidas organofosforados. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 35 (1), 115-124.
15. Gilani, S. T. S., Ageen, M., Shah, H., & Raza, S. (2010). Chlorpyrifos degradation in soil and its effect on soil microorganisms. *J. Anim. Plant Sci.* 20 (2), 99-102.
16. Gonzales, E. (2016). Evaluación del desempeño de *Eisenia Foetida* (lombriz roja californiana) en la degradación de los pesticidas organofosforados clorpirifos y profenofos en suelos Arequipa-2014. Consejo Nacional de Ciencia

Tecnología e Innovación Tecnológica. Universidad Católica de Santa María. Perú. 8-22.

17. Hernández, G., Álvarez, N., Ríos, L. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática. *Corpoica, Cienc. Tecnol. Agropecuaria*, 18(1):139-159.
18. Ibarrola, R., Evar, B., Reay, D. (2013). Comercialización de Biocarbón (biochar) en México. Definición del contexto para un programa de investigación multidisciplinario. (Ed.). Universidad de Edimburgo, Escocia. 28.
19. Jouquet, P., Dauber, J. Lagerlof, J., Lavelle, P., Lepage, M. (2006). Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology*. 32, 153-164.
20. Leal, S., Valenzuela, A., Gutiérrez, M., Bermúdez, M., García, J., Aldana, M., Grajeda, P., Silveira, M.I., Meza, M., Palma, S., Leyva, G., Camarena, B., Valenzuela, C. (2014). Residuos de plaguicidas organoclorados en suelos agrícolas. *Terra Latinoam*. 32 (1), 1-11.
21. Lei, W., Huo, X., Zhou, X. (2017). Adsorption Characteristics and Its Parameters Estimation of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in Purple Soil. *Trans. Chin. Soc. Agric. Mach.* 48 (5), pp. 267-274.
22. Marín, L.F., Jaramillo, B. (2015). Aislamiento de bacterias degradadoras de pesticidas organofosforados encontrados en suelos y en leche bovina. *Rev. Chil. Nutr.* 42 (2), 179-185.
23. Marrero, S., González, S., Guevara, H., Eblen, A. (2017). Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamatos en trabajadores de una comunidad agraria. *Comunidad y Salud*, 15(1), 30-41.
24. Masciandaro, G., Macci, C., Peruzzi, E., Ceccanti, B., Doni, S. (2013). Organic matter/microorganism-plant in soil bioremediation: a synergic approach. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 12, 399-419.
25. Mauriz, E., Calle, A., Manclus, J., Montoya, A. & Lechuga, L. (2007). On-line determination of 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in human urine samples by surface plasmon resonance immunosensing. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 2757-65.

26. Maya, K., Singh, R.S., Upadhyay, S.N., Dubey, S. (2011). Kinetic analysis reveals bacterial efficacy for biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolyzing metabolite TCP. *Process Biochem.* 46 (11), 2130-2136.
27. Muñoz, C., Ginebra, M., Zagal, E., (2019). Variation of Greenhouse Gases Fluxes and Soil Properties with Addition of Biochar from Farm-Wastes in Volcanic and Non-Volcanic Soils. *Sustainability* 11, 1831.
28. Muñoz-Quezada, M.T., Lucero, B., Iglesias, V., Muñoz, M.P. (2014). Vías de exposición a plaguicidas en escolares de la Provincia de Talca, Chile. *Gac. Sanit.* 28(3). 190-195.
29. Ngo, P.T., Rumpel, C., Ngo, Q.A., Alexis, M., Velasquez, G., Mora, M.D.L.L., Dang, D.K., Jouquet, P. (2013). Biological and chemical reactivity and phosphorus forms of buffalo manure compost, vermicompost and their mixture with biochar. *Bioresour. Technol.* 148, 401-407.
30. Picco, E., Boggio, J.C., Rodríguez, C. (2010). Clorpirifós: efectos sobre las esterasas y repercusión toxicológica sobre los seres vivos. *Panorama actual del medicamento*, ISSN 0210-1394, 34 (336), 679.
31. Pennock, D., McKenzie, N. (2015). Estado Mundial del Recurso Suelo - Resumen Técnico. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura & Grupo Técnico Intergubernamental del Suelo.
32. Pérez, C., Juárez, P., Anzaldo, J., Alía, I., Salcedo, E., Balois, R. (2021). Beneficios potenciales del biocarbón en la productividad de cultivos agrícolas. *Rev. Mexicana Cienc. Agric.* 12 (4). 713-725.
33. Racke, K.D., Laskowski, D.A., Schultz, M.R. (1990). Resistance of chlorpyrifos to enhanced biodegradation in soil. *J. Agric. Food Chem.* 38 (6), 1430-1436.
34. Ramírez, J.A., Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch. prev. riesgos lab.* 4 (2), 67-75.
35. Ramírez, M. (2018). El uso de pesticidas en la agricultura y su desorden ambiental. *Rev. Enfermería a la vanguardia.* 2018; Vol. 6 n°2. 40-47.
36. Rodriguez-Campos, J., Dendooven, L., Alvarez-Bernal, D., Contreras-Ramos, S.M. (2014). Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: A review. *Appl. Soil Ecol.* 79, 10–25.

37. Rubilar, O. (2007). Biorremediación de suelos contaminados con pentaclorofenol (PCF) por hongos de pudrición blanca. Tesis para optar al grado académico de doctor en ciencias de recursos naturales. Universidad de La Frontera. Temuco. 9-10.
38. Sánchez, E., Ortiz, L. (2011). Riesgos y estrategias en el uso de plaguicidas. *Inventio, la génesis de la cultura universitaria en Morelos*, Vol. 7, n°14. 21-27.
39. Sanchez-Hernandez, J.C. (2006). Earthworm biomarkers in ecological risk assessment. *Rev. Environ. Contam. T.* 188, 85-126.
40. Sanchez-Hernandez, J.C. (2018). Biochar activation with exoenzymes induced by earthworms: A novel functional strategy for soil quality promotion. *J. Hazard. Mater.* 350, 136–143.
41. Sanchez-Hernandez, J.C., Andrade Cares, X., Adrián Pérez, M., Notario del Pino, J. (2019). Biochar increases pesticide-detoxifying carboxylesterases along earthworm burrows, *Sci. Total Environ.*, 667, 761-768.
42. Sanchez-Hernandez, J.C., Martínez Morcillo, S., Notario Del Pino, J., Ruiz, P. (2014). Earthworm activity increases pesticide-sensitive esterases in soil. *SBB* 75, 186-196.
43. Sanchez-Hernandez, J.C., Notario Del Pino, J., Domínguez, J. (2015). Earthworm-induced carboxylesterase activity in soil: Assessing the potential for detoxification and monitoring organophosphorus pesticides. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 122, 303–312.
44. Sanchez-Hernandez, J.C., Ro, K.S., Szogi, A.A., Chang, S., Park, B. (2021). Earthworms increase the potential for enzymatic bio-activation of biochars made from co-pyrolyzing animal manures and plastic wastes. *J Hazard Mater.* 408, 124405.
45. Sanchez-Hernandez, J.C., Sandoval, M., (2017). Effects of chlorpyrifos on soil carboxylesterase activity at an aggregate-size scale. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 142, 303–311.
46. Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG). (2000). Clasificación Toxicológica de los Plaguicidas de Uso Agrícola. Resolución n°2196.

47. Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG). (2019). Declaración de ventas de plaguicidas de uso agrícola Año 2019. División Protección Agrícola y Forestal. Departamento de Regulación y control de Insumos Silvoagrícolas. Subdepartamento de Plaguicidas y Fertilizantes. 6.
48. Servicio Agrícola y Ganadero de Chile (SAG). (2022). Prohíbe plaguicidas en base a clorpirifós (clorpirifós-etilo), clorpirifós-metilo, dicloruro de paraquat y metomilo y cancela las autorizaciones vigentes de los plaguicidas que las contengan. Resolución 5810 exenta.
49. Shahida. A., T. S. Gilani & H. Nusrat. (2004). Persistence of chlorpyrifos and fenpropathrin alone and in combination with fertilizers in soil and their effect on soil microbes. *Pakistan J. Botany*. 36(4): 863-870.
50. Solomon, K.R., Williams, W.M., Mackay, D., Purdy, J., Giddings, J.M., Giesy, J.P. (2014). Properties and Uses of Chlorpyrifos in the United States, in: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Rev Environ Contam T. pp. 13–34.
51. Stolpe, N. (2006). Descripciones de los Principales suelos de la VIII Región de Chile. Departamento de Suelos y Recursos Naturales, Universidad de Concepción, Chile.
52. Sud, D., Kumar, J., Kaur, P., & Bansal, P. (2020). Toxicity, natural and induced degradation of chlorpyrifos. *J.Chil.Chem.Soc*. 65(2), 4807-4816.
53. Testai, E., Buratti, F. M., Di Consiglio, E. (2010). 'Chlorpyrifos', Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition), 1505–1526.
54. Thompson, C., Richardson, R. (2003). Anticholinesterase insecticides. *Pesticide Toxicology and International Regulation* 89-127.
55. Wheelock, C.E., Nakagawa, Y. (2010). Carboxylesterases-from function to the field: an overview of carboxylesterase biochemistry, structure-activity relationship, and use in environmental field monitoring. *J. Pest. Sci*. 35, 215-217.
56. Yang, L., Zhao, Y., Zhang, B., Yang, C., Zhang, X. (2005). Isolation and characterization of a chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol degrading bacterium. *FEMS Microbiology Letters* 251 (1), 67-73.

57. Zhao, L., Cao, X., Mašek, O., Zimmerman, A. (2013). Heterogeneity of biochar properties as a function of feedstock sources and production temperatures. *Journal of Hazardous Materials* 256-257, 1–9.
58. Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., Xing, B. (2017). Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: a review. *Environ. Pollut.* 227, 98–115.