



CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



Departamento de Química Inorgánica
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DINÁMICA DE FUNGICIDAS EN SUELOS DE VIÑEDO ENMENDADOS CON SUSTRATOS POSTCULTIVO DE HONGOS

Jesús M^a Marín Benito

TESIS DOCTORAL

Salamanca, 2011

**DINÁMICA DE FUNGICIDAS EN SUELOS DE VIÑEDO
ENMENDADOS CON SUSTRATOS
POSTCULTIVO DE HONGOS**

Trabajo presentado por el licenciado Jesús M^a Marín Benito para optar al grado de Doctor en Química, dentro del programa de doctorado Reactividad y Tecnología Químicas de la Universidad de Salamanca.

Salamanca, 30 de Agosto de 2011

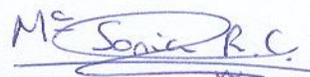


Jesús M^a Marín Benito

LOS DIRECTORES



MARÍA JESÚS SÁNCHEZ MARTÍN
Profesora Investigación del CSIC



MARÍA SONIA RODRÍGUEZ CRUZ
Científico Titular del CSIC

M^a JESÚS SÁNCHEZ MARTÍN, Profesora de Investigación del CSIC, y M^a SONIA RODRÍGUEZ CRUZ, Científico Titular del CSIC, del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca,

CERTIFICAN:

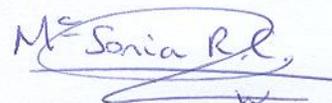
Que el Licenciado en Química JESÚS M^a MARÍN BENITO ha realizado en los laboratorios del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), bajo su dirección, el trabajo para optar al grado de Doctor en Química que presenta con el título:

"Dinámica de fungicidas en suelos de viñedo enmendados con sustratos postcultivo de hongos"

Y para que así conste, firman el presente certificado en Salamanca, a 30 de Agosto de dos mil once.



Fdo: M^a Jesús Sánchez Martín



Fdo: M^a Sonia Rodríguez Cruz

V^o B^o del tutor de Tesis



Fdo: Prof. Dr. Vicente Rives Arnau
Catedrático de Química Inorgánica
Universidad de Salamanca

El presente trabajo **“Dinámica de fungicidas en suelos de viñedo enmendados con sustratos postcultivo de hongos”**, ha sido realizado en el Dpto. de Procesos de Degradación del Medio Ambiente y su Recuperación del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), bajo la dirección de la Prof. Dra. M^a Jesús Sánchez Martín y la Dra. M^a Sonia Rodríguez Cruz.

La realización del mismo ha sido posible gracias a una beca JAE-Predocctoral (2008-2012) del CSIC y la investigación ha estado asociada a los proyectos: **“Evaluación del impacto ambiental en suelos y aguas de fungicidas aplicados a viñedos enmendados previamente con residuos postcultivo de hongos” (AGL2007-61674/AGR)** y **“Utilización de sustratos postcultivo de hongos (SPCH) en viñedos: fertilización y recuperación de suelos” (PROFIT CIT-310200-2007-0063)** subvencionados por la Dirección General de Investigación del Ministerio de Educación y Ciencia.

A Denia, Pilar y Aurelio

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible la realización de esta Memoria:

A las directoras de este trabajo:

La Dra. María Jesús Sánchez Martín, Profesora de Investigación del CSIC en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca, por la confianza depositada en mí y haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo, por su continua dedicación, orientación y constante estímulo en el desarrollo de esta Memoria, así como por ofrecerme su apoyo y amistad en todo momento.

La Dra. María Sonia Rodríguez Cruz, Científico Titular del CSIC en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca, por haberme animado y asesorado en la realización de este trabajo, por su dirección, ayuda y continuo seguimiento y desarrollo de esta Memoria, así como por su apoyo y amistad brindada desde el inicio.

A mi tutor, el Prof. Dr. Vicente Rives Arnau, Catedrático del Dpto de Química Inorgánica de la Universidad de Salamanca, por su colaboración desinteresada en la presentación de este trabajo, así como por su dedicación y ayuda prestada para lograr este fin.

A la Dra. D^a M^a Soledad Andrades, Prof. Titular del Dpto. de Agricultura y Alimentación de la Universidad de La Rioja, por su colaboración activa en la realización de este trabajo y por facilitar la gestión del material y el desarrollo de algunas actividades propuestas en el mismo dada su vinculación con los organismos de gobierno y con las empresas interesadas en el proyecto de la Comunidad de La Rioja. También le agradezco los buenos momentos vividos durante los muestreos, además de su continuo apoyo, ánimos y amistad brindada.

A la Dra. Carmen del Hoyo Martínez, Prof. Titular del Dpto. de Química Inorgánica de la Universidad de Salamanca, por su ayuda al comienzo de la realización de este trabajo y su amistad brindada durante todo este tiempo.

A la Dra. Margarita Pérez Clavijo del Centro Tecnológico de Investigación del Champiñón (CTICH) (Gobierno de La Rioja) por la caracterización fisicoquímica de los sustratos postcultivo de hongos.

Al Dr. Enrique García-Escudero Domínguez y D. José M^a Martínez Vidaurre del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario (CIDA) (Gobierno de La Rioja) por el diseño de las parcelas experimentales y la localización de los puntos de muestreo en cada una de ellas.

A las Bodegas CVNE, Bodegas Viñedos de Aldeanueva y Bodegas Viña Ijalba por permitir el establecimiento de parcelas experimentales en sus fincas de viñedo en La Rioja y por su interés en el desarrollo del trabajo.

A la Empresa INTRAVAL S.L. (grupo TRADEBE), dedicada a la recogida y compostaje de residuos, por suministrar los residuos postcultivo de hongos, frescos y compostados, para el desarrollo del trabajo.

A las Dras. Anna Barra Caracciolo y Paola Grenni del Instituto di Ricerca Sulle Acque, Consiglio Nazionale dell Ricerche (IRSA-CNR, Roma, Italia) por su enseñanza dentro del mundo microbiológico y por su acogedor recibimiento durante mi estancia en su centro de investigación.

A la Dra. Laure Mamy del Institut National de Recherche Agronomique (INRA, Versailles, Francia) por introducirme en el campo de la modelización del destino mediambiental de los pesticidas, y especialmente por su cálida acogida, ayuda y amistad brindada antes, durante y después de mi estancia en su centro de investigación.

Al Prof. Dr. Colin Brown del Departamento de Medio Ambiente de la Universidad de York (Reino Unido) por poner a mi disposición sus amplios conocimientos de modelización durante mi estancia en York.

Al Dr. Gilles Nicollier de Syngenta Crop Protection (Suiza) que amablemente suministró los productos estándar de los metabolitos del metalaxil.

A D. José Manuel Ordax, D. Luis Fernando Lorenzo y D. Ángel González Núñez por su constante ayuda, experiencia, asesoramiento y seguimiento en el trabajo de laboratorio de esta Memoria, así como por los buenos e inolvidables momentos que he pasado con ellos durante la realización del mismo.

A mis compañeros y amigos de laboratorio Hanane Azejjel y Eliseo Herrero por su permanente apoyo, consejo y colaboración prestada en la realización del presente trabajo, y especialmente por su amistad y los estupendos momentos que hemos pasado juntos en el trabajo de laboratorio y de campo.

A todos los becarios, pasados y presentes, del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca, por su apoyo, la amistad y los buenos momentos compartidos.

A todos los miembros del Dpto. de Procesos de Degradación del Medio Ambiente y su Recuperación, así como a todo el personal del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca.

Al Consejo Superior de Investigaciones Científicas por la financiación económica mediante la concesión de una beca del Programa JAE-Predocctoral (2008) que me ha permitido la realización de este trabajo.

Y especialmente, a Denia, a mis padres y hermanas, quienes con su incondicional y constante apoyo, sus alentadoras palabras de ánimo en los momentos difíciles, su paciencia y continua confianza en mí han contribuído en gran medida a la realización de este trabajo.

A todos ellos, MUCHAS GRACIAS.



ÍNDICE

OBJETIVO DEL TRABAJO	1
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. PESTICIDAS	7
1.1.1. Producción y uso actual.....	7
1.1.2. Tipos de pesticidas	9
1.1.3. Problemas originados por el uso de pesticidas: Contaminación de suelos y aguas.....	10
1.2. PROCESOS QUE AFECTAN A LOS PESTICIDAS EN EL SUELO	13
1.2.1. Procesos de acumulación: <i>Adsorción-desorción</i>	15
1.2.1.1. Mecanismos de interacción pesticida-adsorbente	15
1.2.1.2. Factores que influyen en la adsorción de pesticidas por los suelos	17
Propiedades fisicoquímicas del suelo	17
Propiedades del pesticida	19
Factores del medio	20
1.2.2. Procesos de eliminación: <i>Degradación</i>	21
1.2.2.1. Factores que influyen en la degradación de pesticidas en suelos.....	22
1.2.3. Procesos de movimiento: <i>Lixiviación, Escorrentía y Volatilización</i>	23
1.2.3.1. Factores que influyen en la movilidad de pesticidas en suelos	24
1.3. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LOS PROCESOS IMPLICADOS EN LA DINÁMICA DE LOS PESTICIDAS EN EL SUELO	25
1.3.1. Estudio de la adsorción-desorción de pesticidas en suelos	25
Modelización de la adsorción-desorción de pesticidas en suelos	26
1.3.2. Estudio de la degradación de pesticidas en suelos	28
Modelización de la degradación de pesticidas en suelos	29
1.3.3. Estudio de la lixiviación de pesticidas en suelos	31
Modelización de la lixiviación de pesticidas en suelos	32
1.4. RESIDUOS ORGÁNICOS	33
1.4.1. Utilización de residuos orgánicos como enmiendas en agricultura.....	33
1.4.2. Residuos postcultivo de hongos.....	34
1.4.3. Interés del estudio del comportamiento de fungicidas en suelos de viñedo enmendados con residuos postcultivo de hongos	35
1.5. INFLUENCIA DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS APLICADOS AL SUELO EN EL COMPORTAMIENTO DE PESTICIDAS	36

2. MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES	39
2.1. MATERIALES	41
2.1.1. Residuos postcultivo de hongos.....	41
2.1.2. Suelos	41
2.1.3. Parcelas de experimentación.....	44
2.1.4. Fungicidas.....	46
Metalaxil	46
Benalaxil.....	48
Penconazol	48
Tebuconazol.....	50
Pirimetanil.....	50
Ciprodinil	51
Azoxistrobin	52
Iprovalicarb.....	52
2.2. MÉTODOS EXPERIMENTALES	54
2.2.1. Determinación de las características de los residuos postcultivo de hongos y de los suelos	54
Residuos postcultivo de hongos	54
Suelos	55
2.2.2. Adsorción-desorción y mecanismo de interacción de los fungicidas con los residuos postcultivo de hongos	56
Isotermas de adsorción-desorción.....	56
Determinación cuantitativa de los fungicidas.....	57
Mecanismo de interacción de los fungicidas con los residuos orgánicos	58
2.2.3. Adsorción de los fungicidas por suelos no enmendados y enmendados con los residuos postcultivo de hongos.....	58
Preparación de los suelos enmendados	58
Adsorción de los fungicidas por los suelos.....	59
Determinación cuantitativa de los fungicidas.....	59
2.2.4. Adsorción-desorción de fungicidas seleccionados por suelos enmendados con los residuos postcultivo de hongos: Influencia de la dosis de enmienda y del tiempo de incubación suelo-residuo	60
Incubación de los suelos enmendados.....	60
Isotermas de adsorción-desorción.....	60
Determinación cuantitativa de los fungicidas.....	61
2.2.5. Disipación de fungicidas en suelos sin enmendar y enmendados con los residuos postcultivo de hongos.....	62
Preparación e incubación de las muestras suelo-fungicida	62

Extracción y determinación de los fungicidas y metabolitos	63
Mineralización de los fungicidas ¹⁴ C-metalaxil y ¹⁴ C-penconazol y determinación de los residuos no extraíbles enlazados al suelo	65
Determinación de la actividad deshidrogenasa	66
Modelización de las curvas de disipación/degradación de fungicidas en el suelo sin enmendar y enmendado	66
2.2.6. Movilidad de los fungicidas metalaxil y penconazol en suelos de parcelas experimentales sin enmendar y enmendados con residuos postcultivo de hongos	68
Determinación cuantitativa de penconazol, metalaxil y metabolitos del metalaxil en los lixiviados y en los extractos de los suelos	70
Determinación cuantitativa del trazador KCl	71
Extracción de los fungicidas de las columnas de suelo	72
Modelización de la movilidad de penconazol y metalaxil en columnas de suelo: Modelo PRZM 3.12	72
Parametrización del modelo	72
Evaluación del PRZM	73
2.2.7. Estudio estadístico de los resultados obtenidos en los distintos procesos estudiados	74
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	75
3.1. ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN-DESORCIÓN Y DEL MECANISMO DE INTERACCIÓN DE FUNGICIDAS POR DIFERENTES RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS	77
3.1.1. Caracterización de los residuos postcultivo de hongos seleccionados	77
3.1.2. Adsorción-desorción de fungicidas por los residuos postcultivo de hongos.....	78
Adsorción de fungicidas por los SMS	78
Desorción de los fungicidas desde los SMS	83
3.1.3. Mecanismo de interacción SMS-fungicidas.....	86
3.2. ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN-DESORCIÓN DE FUNGICIDAS POR DIFERENTES SUELOS DE VIÑEDO DE LA RIOJA SIN ENMENDAR Y ENMENDADOS CON LOS RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS.....	91
3.2.1. Adsorción de fungicidas por suelos de viñedo: Influencia de las propiedades de los suelos	91
3.2.2. Adsorción-desorción de fungicidas por suelos: Influencia de la dosis de residuo y del tiempo de incubación suelo-residuos.....	96
Adsorción de los fungicidas por los suelos no incubados (T0)	96
Adsorción de los fungicidas por los suelos incubados durante diferentes períodos de tiempo.....	102
Desorción de los fungicidas en los suelos.....	107

3.3. ESTUDIO DE LA DISIPACIÓN DE FUNGICIDAS EN SUELOS SIN ENMENDAR Y ENMENDADOS CON LOS RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS	111
3.3.1. Cinéticas de disipación y persistencia de los fungicidas en los suelos	111
Iprovalicarb	111
Pirimetanil	114
Metalaxil	118
Penconazol	122
3.3.2. Mecanismo de disipación de ¹⁴ C-metalaxil y ¹⁴ C-penconazol: Cinética de mineralización y formación de residuos enlazados	125
Metalaxil	125
Penconazol	128
3.3.3. Actividad deshidrogenasa del suelo como medida de la actividad microbiana de los suelos	132
3.4. ESTUDIO DE LA MOVILIDAD DE FUNGICIDAS EN SUELOS DE PARCELAS EXPERIMENTALES SIN ENMENDAR Y ENMENDADOS CON LOS RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS. APLICACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO PRZM	136
3.4.1. Movilidad de metalaxil en columnas de suelo	136
3.4.2. Movilidad de penconazol en columnas de suelo	146
3.4.3. Modelización del comportamiento de metalaxil y penconazol en columnas de suelo sin enmendar y enmendado mediante el modelo matemático PRZM	149
Modelización de los resultados de movilidad de metalaxil	149
Modelización de los resultados de movilidad de penconazol	159
4. CONCLUSIONES	163
5. BIBLIOGRAFÍA	169



OBJETIVO

OBJETIVO DEL TRABAJO

La gestión y el aprovechamiento de toda clase de residuos orgánicos es, en la actualidad, una preocupación constante en los países desarrollados, dada la elevada cantidad que se generan diariamente en las distintas actividades que se llevan a cabo. Por ello, es de gran importancia llevar a cabo acciones que contribuyan a resolver el problema ambiental que provoca su acumulación y, si es posible, intenten rentabilizar sus recursos para no perder el valor económico que muchos de ellos pueden tener.

En España, la legislación actual establece la necesidad de elaborar un programa de actuaciones que se realice de forma conjunta por la Administración General del Estado y las comunidades autónomas, para reducir los residuos orgánicos destinados a los vertederos mediante el reciclaje, el compostaje y la valorización para evitar los impactos negativos que provoca en el medio ambiente su vertido. Entre los planes de actuación para la gestión de estos residuos, se contempla la valorización de la materia orgánica de los residuos mediante su uso como enmienda orgánica, directamente en los suelos o después de un proceso de compostaje. Este aprovechamiento de residuos orgánicos biodegradables tiene un gran interés, ya que en España gran parte de los suelos tienen un contenido en materia orgánica bajo o muy bajo, lo que da lugar a una pérdida de fertilidad y a una mayor predisposición hacia fenómenos de degradación y desertización en ellos.

Entre los residuos orgánicos potencialmente aprovechables en agricultura como enmienda y fertilizante, se encuentran los residuos urbanos, los residuos derivados de la producción agrícola o forestal y los residuos derivados de la industria agroalimentaria. Dentro de este último grupo, cabe señalar el interés actual de los residuos generados en el cultivo del champiñón y setas conocidos como sustratos postcultivo de hongos (SMS).

España es el tercer país europeo productor de hongos comestibles, con una producción aproximada de 136000 toneladas/año, siendo La Rioja la primera comunidad autónoma productora de este cultivo. En la producción de todas las especies de hongos quedan millones de toneladas de sustrato "gastado" que se acumulan sobre las cantidades almacenadas en años anteriores. Por cada tonelada de hongos producida, se genera al menos una cantidad equivalente de materiales residuales, que en el año 2007 representaron en La Rioja 325000 t totales de sustrato postcultivo. Por ello, la valorización de este material residual como fuente de materia orgánica, y su aplicación en los suelos de viñedo de La Rioja presenta un especial interés, debido al bajo contenido en materia orgánica de estos suelos y a la relevancia que este cultivo tiene en la región.

Sin embargo, la aplicación de los residuos orgánicos al suelo conlleva una aportación al mismo de materia orgánica (sólida y líquida) de distinta naturaleza que puede influir en otras prácticas agrícolas, como es la aplicación de pesticidas en suelos, que hay que considerar con especial atención cuando se realizan simultáneamente en la agricultura. Los principales procesos que afectan al comportamiento de los pesticidas en el suelo (adsorción, degradación y movilidad)

dependen en gran medida del contenido de materia orgánica del suelo, especialmente cuando los pesticidas agrícolas utilizados son compuestos orgánicos no-iónicos, hidrofóbicos, con solubilidad baja o muy baja en agua. La adsorción de estos compuestos está relacionada con el contenido en materia orgánica sólida del suelo, mientras que la movilidad de los mismos está relacionada con el contenido en materia orgánica disuelta.

De acuerdo con lo indicado anteriormente, y considerando que en la bibliografía no existen trabajos referentes a estudios sobre la influencia de los residuos postcultivo de hongos en el comportamiento de pesticidas en suelos, el **objetivo principal del trabajo** fue conocer **la influencia de la aplicación de estos residuos como enmienda en suelos de viñedo de La Rioja en los procesos que rigen el comportamiento de fungicidas en suelos, y en el posible impacto de estos compuestos, que son aplicados en grandes cantidades en los cultivos del viñedo, en la contaminación de suelos y aguas subterráneas.**

Para conseguir el objetivo principal del trabajo se abordaron los siguientes objetivos parciales:

- 1. Determinación de la capacidad de adsorción-desorción de fungicidas por residuos postcultivo de hongos de diferente origen y/o tratamiento, y el mecanismo de interacción por el que estos compuestos son retenidos.** Se seleccionaron ocho fungicidas (metalaxil, benalaxil, penconazol, tebuconazol, pirimetanil, ciprodinil, azoxistrobin e iprovalicarb) pertenecientes a los grupos químicos más ampliamente utilizados en los cultivos del viñedo y con propiedades diferentes en cuanto a solubilidad en agua y carácter hidrofóbico.
- 2. Determinación de la capacidad de adsorción de los fungicidas por suelos de viñedo sin enmendar y enmendados con los residuos postcultivo de hongos. Estudio de la influencia de las propiedades de los suelos, de la dosis de enmienda y del tiempo de incubación del suelo con los residuos.**
- 3. Evaluación de la disipación de fungicidas seleccionados en un suelo de viñedo sin enmendar y enmendado con los residuos postcultivo de hongos en condiciones controladas de laboratorio. Estudio de las cinéticas de disipación, mineralización y balance de masa de los fungicidas y determinación de la actividad deshidrogenasa de los suelos en función del tiempo.**
- 4. Evaluación de la movilidad de fungicidas seleccionados en columnas de suelos de viñedo sin alterar, no enmendados y enmendados con los residuos postcultivo de hongos. Modelización del comportamiento de los fungicidas con el modelo PRZM-3 (Pesticide Root Zone Model).**



INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PESTICIDAS

1.1.1. Producción y uso actual

La necesidad de asegurar la producción de los cultivos con suficiente calidad y cantidad y poder de este modo cubrir las necesidades alimenticias de toda la población ha llevado, desde siglos pasados, a la utilización de compuestos para combatir todo tipo de plagas y enfermedades. Sin embargo, fue el desarrollo de los pesticidas orgánicos sintéticos, durante y después de la Segunda Guerra Mundial, lo que revolucionó el control de las plagas. Actualmente, los agricultores consideran esenciales los pesticidas para producir alimentos saludables y suficientes para todos (Matthews, 2008). A pesar de todo, datos recientes estiman entre un 26% y un 40% las pérdidas que la mayoría de los cultivos agrícolas soportan como consecuencia de plagas de insectos, hongos, bacterias, ácaros y otros patógenos y, en mayor grado, por la competición entre los cultivos y las malas hierbas por los nutrientes del suelo (Oerke y Dehne, 2004). Esto conduce al desarrollo de nuevas formulaciones de compuestos que permitan disminuir la dosis de pesticida aplicado a los cultivos, aumentando su especificidad y eficacia, contrarrestando así, la adaptación de los patógenos al pesticida en cuestión.

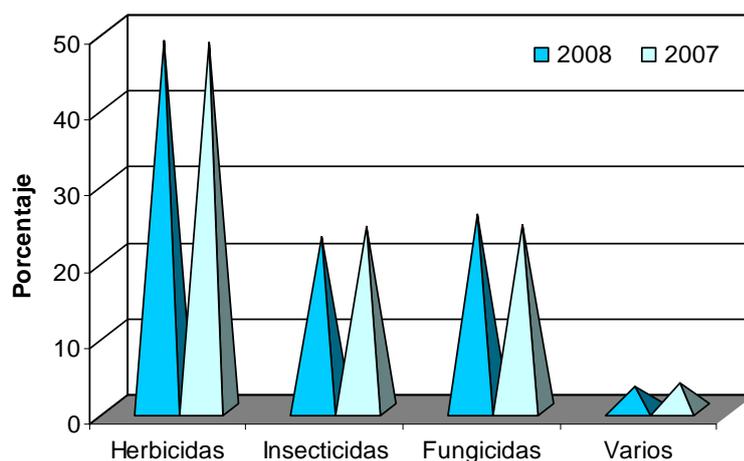


Figura 1. Porcentaje de ventas a nivel mundial de los principales grupos de pesticidas utilizados en agricultura, años 2007 y 2008

La disponibilidad de un amplio rango de productos químicos ha motivado un crecimiento global en el uso y, por tanto, en el mercado internacional de los pesticidas. Durante los años 2007 y 2008, se observó que entre las cantidades totales destinadas a la compra de pesticidas, aproximadamente el 48% se empleó en herbicidas, un 23% en insecticidas, acaricidas y nematocidas, un 26% en la adquisición de fungicidas, y un 3% en otros productos (Figura 1) (www.aepla.es).

Aproximadamente un tercio del total de pesticidas utilizados en el mundo se emplean en Norte América, seguidos de Europa Occidental y Asia Oriental con un quinto del total cada una. América Latina con un 16% del mercado total ocupa el cuarto lugar en el ranking de utilización de pesticidas en el sector de la agricultura (Figura 2) (Matthews, 2008).

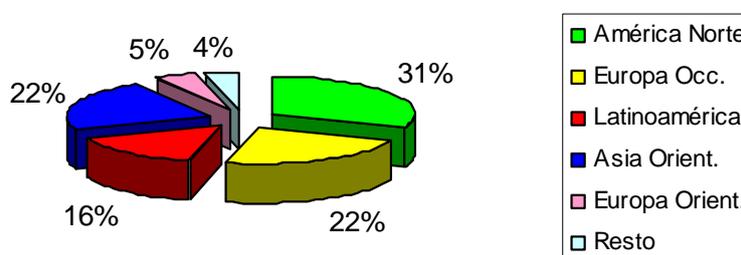


Figura 2. Porcentaje global de ventas de pesticidas en el mundo, 2003

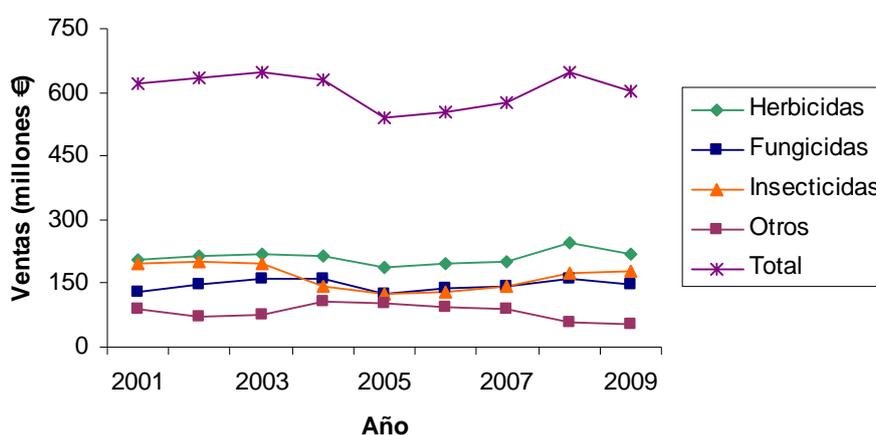


Figura 3. Evolución de las ventas de pesticidas por grupos en España

El mercado fitosanitario español durante 2009 experimentó un descenso del 7.4% respecto al año 2008, cortando de este modo la continua crecida que venía produciéndose desde 2006 (> 16%) y que parecía reflejar una cierta recuperación, más en valor y precios, que en

consumo, tras el grave descenso del período 2004/2005 (-13.75%). En España, los grupos de pesticidas más demandados son los herbicidas, fungicidas e insecticidas (Figura 3). Las ventas de estos productos por comunidades autónomas, en el año 2009, se concentraron en gran medida en Andalucía Occidental (16.42%) y Oriental (13.88%), seguida por la Comunidad Valenciana (12.02%), Murcia (10.93%), Cataluña (9.65%) y Castilla-León (8.77%) (www.aepla.es). La Rioja, con 13.79 kg ha⁻¹ de pesticidas aplicados anualmente en la agricultura, es una de las comunidades autónomas que más invierte por hectárea en el mercado fitosanitario (datos correspondientes al año 2008) (www.marm.es).

1.1.2. Tipos de pesticidas

Un pesticida es un compuesto químico, inorgánico u orgánico, elaborado para controlar, matar, repeler o atraer a una plaga. Se considera plaga a cualquier organismo vivo que provoque daño o pérdidas económicas o que transmita o produzca alguna enfermedad. Las plagas pueden estar provocadas por animales (como insectos o ratones), plantas no deseadas (malas hierbas, malezas) o microorganismos (virus de las plantas).

Los pesticidas se pueden clasificar atendiendo a diversos aspectos. Desde el punto de vista de su aplicación se clasifican en: herbicidas (aplicación contra las malas hierbas), fungicidas (aplicación contra hongos), insecticidas (aplicación contra insectos), acaricidas (aplicación contra ácaros), rodenticidas (aplicación contra ratones y otros roedores), nematocidas (aplicación contra nematodos), molusquicidas (aplicación contra moluscos), fitohormonas y fitoreguladores (inhiben, promueven o modifican algún proceso fisiológico en organismos vegetales), etc. Los tres primeros grupos, herbicidas, fungicidas e insecticidas, se consideran los de mayor interés por ser los más utilizados.

Hay muchos grupos diferentes de **herbicidas** basados en su estructura química: compuestos piridínicos y bipyridínicos (paraquat, dicuat, etc.), dinitroanilinas (trifluralin, etc.), compuestos organoclorados (2,4-D, pentaclorofenol y 2,4,5-T), ureas sustituidas (isoproturón, flumeturón, diurón, linurón, etc.), sulfonilureas (metsulfurón metilo, etc.), triazinas (atrazina, simazina, terbutilazina, prometrina, etc.), fenoxiácidos y derivados (glifosato, etc.), carbamatos y tiocarbamatos.

Los **fungicidas** también incluyen diferentes grupos de compuestos basados en su estructura química. Algunos de ellos son los azoles y análogos (penconazol, propiconazol, tebuconazol, etc.), fenilamidas o acetilalaninatos (benalaxil, metalaxil, etc.), anilino-pirimidinas (ciprodinil, pirimetanil, etc.), benzimidazoles (carbendazim, etc.), análogos de la estrobilurina (azoxistrobin, etc.), carbamatos (iprovalicarb, etc.) y ditiocarbamatos (mancozeb, maneb, etc.) (Matthews, 2008).

Los compuestos organoclorados y organofosforados son los dos principales tipos de compuestos utilizados como **insecticidas**, ambos neurotóxicos. Los organoclorados incluyen los derivados del cloroetano ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Cl}$) (hexaclorobenceno, captafol, DDT, etc.) y pesticidas clorados ciclodienos (clordano, heptaclor, aldrín, dieldrín, endrín, endosulfán, etc.) y los organofosforados incluyen compuestos con distinto grado de peligrosidad, paratión, clorpirifos, metidatión, monocrotofos, temefos, diazinón, malatión o triclorfon. También son insecticidas compuestos derivados del ácido carbámico (aldicarb, propoxur, carbaril, carbofurano, etc.), y piretrinas (permetrín, cipermetrín y deltametrín) (Elliott y col., 1978) desarrollados para luchar contra los problemas de resistencia generados por los compuestos organoclorados y organofosforados.

1.1.3. Problemas originados por el uso de pesticidas: Contaminación de suelos y aguas

Los pesticidas modernos son más potentes y selectivos, lo que permite emplear dosis cada vez más bajas. Sin embargo, el destino medioambiental de estos compuestos es en la actualidad una gran preocupación porque el uso de moléculas móviles y/o persistentes afecta a la calidad del suelo (Crecchio y col., 2001; Johnsen y col., 2001) y a la calidad de las aguas superficiales y subterráneas (Zhang y col., 2002; Gerecke y col., 2002; Cerejeira y col., 2003; Miglioranza y col., 2003; Palma y col., 2004). Konstantinou y col. (2006) han indicado la influencia de las características del suelo, topografía, condiciones climáticas, prácticas agrícolas y propiedades químicas y medioambientales de los pesticidas, en particular, en la contaminación de las aguas subterráneas por estos compuestos.

La concentración máxima permitida de pesticidas en suelos y en todo tipo de aguas está regulada por una serie de directivas que intentan evitar la contaminación de los ecosistemas acuáticos y, por tanto, el riesgo para la población. La Directiva Europea sobre la potabilidad del agua, Directiva 80/778/EEC, y la Directiva revisada 98/83/ECC, sin que se estableciera cambio alguno en los parámetros para los pesticidas, establece que el nivel individual de un pesticida en agua potable no puede exceder la concentración de $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ y la concentración total de pesticidas en el agua no puede exceder de $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$. La Directiva sobre el registro de productos fitosanitarios (91/414/EEC) intenta evitar el impacto de estos compuestos en los organismos a los que no van destinados, tanto en ecosistemas acuáticos como terrestres. Estos valores también son válidos para el agua superficial cuando se utiliza como agua de bebida, de conformidad con la Directiva 75/440/EEC (Carter, 2000). Sin embargo, en la práctica, tal y como ponen de manifiesto una gran cantidad de trabajos bibliográficos, se ha observado la presencia de residuos de pesticidas en suelos y aguas en distintos países del mundo en concentraciones superiores a los límites máximos permitidos por la legislación.

Así, en España, la presencia de atrazina y alacloro en concentraciones superiores a las permitidas se ha detectado en aguas superficiales y subterráneas en campos de cultivo de maíz de la Comunidad de Castilla y León (Carabias y col., 2003; Sánchez-Camazano y col., 2005). Martínez-Vidal y col. (2004) han determinado más de 40 pesticidas (organofosforados y organoclorados) en aguas superficiales y subterráneas de las principales áreas agrícolas de la provincia de Almería. Los pesticidas más comúnmente encontrados fueron endosulfán alfa, endosulfán sulfato y clorpirifos etil en las aguas subterráneas y, endosulfán alfa, beta y sulfato en las aguas superficiales. Aunque el pesticida encontrado a un mayor nivel de concentración fue malatión. Un análisis simultáneo de 32 pesticidas en 75 aguas superficiales de diferentes zonas agrícolas de Andalucía realizado por Belmonte y col. (2005) puso de manifiesto la existencia de 10 de ellos. En total, un 20% de las muestras de agua analizadas dieron valores positivos, y de éstas sólo el 6% excedieron el nivel máximo establecido por la Legislación Europea, siendo los compuestos detectados el fungicida carbendazim ($5.50 \mu\text{g L}^{-1}$) y los herbicidas terbutilazina ($4.50 \mu\text{g L}^{-1}$) y diurón ($2.44 \mu\text{g L}^{-1}$).

Kuster y col. (2008) investigaron la presencia de cinco pesticidas ácidos (2,4-D, bentazona, MCPA, mecoprop y propanil) en la cuenca del río Llobregat (España) y determinaron que el MCPA y el 2,4-D fueron los pesticidas más omnipresentes y abundantes aunque no superaron los límites establecidos por la Unión Europea. La bentazona fue el único de los cinco pesticidas que no se detectó. Hildebrandt y col. (2008) monitorizaron metolacoloro, metalaxil y tres triazinas en aguas superficiales y subterráneas de las cuencas de los ríos Ebro, Duero y Miño, encontrando que el 12% de los resultados excedieron el límite máximo permitido por la Unión Europea de $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$. La atrazina fue el principal contaminante del río Duero, y la atrazina y la simazina del río Ebro. Rara vez se detectaron niveles traza de algún pesticida en el río Miño.

Bermúdez-Couso y col. (2007) estudiaron la presencia de varios fungicidas en aguas, suelos de viñedo de la región de Ourense y en los sedimentos de un río anexo a los suelos. Detectaron la presencia, entre otros fungicidas, de metalaxil, ciprodinil y penconazol en las muestras de suelo y sedimentos pero no en las muestras de agua, y siempre en concentraciones más elevadas en los suelos que en los sedimentos. Las concentraciones de metalaxil, ciprodinil y penconazol detectadas en los suelos de viñedo fueron superiores a 1000, 450 y $411 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. Estudios preliminares llevados a cabo por Herrero-Hernández y col. (2011a) han puesto de manifiesto también, la presencia de residuos de fungicidas tales como metalaxil, penconazol, tebuconazol, miclobutanil, pirimetanil, ciprodinil y kresoxim-metil, en aguas de pozos situados en zonas de viñedo de La Rioja.

En países europeos como Francia (Blanchoud y col., 2004), Holanda (van Maasen y col., 2001), Grecia (Kotrikla y col., 2006), Inglaterra (Stoate y col., 2001), Alemania (Neumann y col., 2003; Berenzen y col., 2005), Portugal (Cerejeira y col., 2003; Gonçalves y col., 2007) o Bulgaria (Bratanova y Vassilev, 2001) entre otros, también se ha detectado la presencia de pesticidas en aguas superficiales y subterráneas. Así por ejemplo, Blanchoud y col. (2004) encontraron en

captaciones de aguas de zonas urbanas la concentración más alta de diurón encontrada en Francia, $8.7 \mu\text{g L}^{-1}$. En un estudio llevado a cabo en 3500 lugares de Inglaterra y Gales, se detectaron 100 de los 120 pesticidas monitorizados y cinco herbicidas (atrazina, diurón, bentazona, isoproturón y mecoprop) sobrepasaron el límite establecido por la Directiva 91/414/EEC sobre límites de pesticidas en agua potable (Stoate y col., 2001). Neumann y col. (2003) detectaron la presencia de etil paratión ($0.3 \mu\text{g L}^{-1}$), diurón ($> 17.3 \mu\text{g L}^{-1}$), etofumesato ($> 51.1 \mu\text{g L}^{-1}$), metamitrón ($> 92 \mu\text{g L}^{-1}$) y prosulfocarb ($> 130 \mu\text{g L}^{-1}$) en tres vías de entrada de agua a un arroyo situado en una zona agrícola; y Berenzen y col. (2005) determinaron concentraciones de hasta $29.7 \mu\text{g L}^{-1}$ de azoxistrobin y $9.1 \mu\text{g L}^{-1}$ de tebuconazol en arroyos alemanes. En una revisión llevada a cabo por Konstantinou y col. (2006) sobre los niveles de contaminación por pesticidas en aguas superficiales de ríos y lagos de Grecia se encontró que los pesticidas más frecuentemente detectados en aguas superficiales fueron atrazina, simazina, metolacloro, alacloro y molinato.

Las aguas subterráneas de Estados Unidos también se han visto afectadas por niveles de pesticidas superiores a los máximos permitidos en el 0.8% de los pozos comunitarios (94625 en total) y el 0.6% de los pozos privados (10508770 en total) como demuestra un estudio llevado a cabo por Hairston y col. (2001) durante 5 años. Por su parte, Battaglin y col. (2010) analizaron 103 muestras de aguas procedentes de 29 arroyos en 13 estados de EE.UU. y determinaron la presencia de varios fungicidas. El azoxistrobin fue el fungicida más frecuentemente detectado, en el 45% de las muestras analizadas siendo $1.13 \mu\text{g L}^{-1}$ la concentración máxima detectada, seguido de metalaxil (27%, concentración máxima de $0.067 \mu\text{g L}^{-1}$), propiconazol (17%, concentración máxima de $1.15 \mu\text{g L}^{-1}$), miclobutanil (9%, concentración máxima de $0.032 \mu\text{g L}^{-1}$) y tebuconazol (6%, concentración máxima de $0.115 \mu\text{g L}^{-1}$).

Las aguas de otros países americanos, como Brasil, también han sido objeto de estudio. Dores y col. (2006) llevaron a cabo un estudio de la presencia de los herbicidas simazina, metribuzina, metolacloro, trifluralín, atrazina y dos metabolitos, desisopropilatrazina (DIA) y desetilatrazina (DEA), en muestras de agua utilizada para consumo humano sin tratamiento previo y determinaron que el nivel de concentración más alto fue de $1.73 \mu\text{g L}^{-1}$ para metolacloro mientras que la metribuzina fue el herbicida más frecuentemente detectado con una concentración máxima de $0.35 \mu\text{g L}^{-1}$. Carbo y col. (2008) analizaron 110 muestras de aguas subterráneas de campos de algodón, también de Brasil, y encontraron ocho pesticidas (acetamiprid, aldicarb, carbendazín, carbofurán, diurón, imidacloprid, metomil y teflubenzurón). El 18% de las muestras de agua contenían al menos uno de estos pesticidas en concentraciones que oscilaron entre 0.78 y $68.79 \mu\text{g L}^{-1}$.

También se han llevado a cabo estudios de monitorización de pesticidas en aguas subterráneas en el continente asiático. Shomar y col. (2006) analizaron la presencia de 52 pesticidas en 94 pozos subterráneos en la región de Gaza. El agua de 63 pozos no mostraba niveles detectables de pesticidas o eran inferiores a los permitidos por la legislación. Mientras que

en 18, 15, 8 y 5 pozos se detectaron los herbicidas atrazina, desisopropilatrazina, propazina, simazina con concentraciones medias de 3.5, 1.2, 1.5 y 2.3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Observaron además que las aguas de pozos subterráneos municipales localizados en áreas residenciales mostraban mejor calidad que la de los pozos privados ubicados en zonas agrícolas. Phong y col. (2010) monitorizaron 46 pesticidas (11 fungicidas, 20 herbicidas y 11 insecticidas con 4 metabolitos) en muestras de agua de un arrozal y del río Kose (Japón), en el que drena una cuenca arroceras, y detectaron 32 compuestos en todas o algunas de las muestras de agua analizadas. La concentración total de pesticidas en las muestras de agua durante el período de monitorización llegó a alcanzar picos de hasta 35.5 $\mu\text{g L}^{-1}$, valor al cual no todos los pesticidas contribuyeron por igual, ya que mientras las concentraciones de los insecticidas y fungicidas permanecieron en niveles residuales de aproximadamente 0.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ o menos, las concentraciones de algunos herbicidas alcanzaron máximos de varios $\mu\text{g L}^{-1}$ (17.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ cafenstrol, y 15.9 $\mu\text{g L}^{-1}$ pretilacloro).

Asimismo, en otros países como India o Nueva Zelanda también se han encontrado altas concentraciones de pesticidas organoclorados y organofosforados (Sankararamkrishnan y col., 2004) o triazínicos (Close y Rosen, 2001) en aguas superficiales y/o subterráneas.

El incremento de la detección de pesticidas en las aguas subterráneas se puede atribuir por una parte al desarrollo de nuevos pesticidas más fácilmente degradables a metabolitos con una mayor capacidad de lixiviación que sus antecesores, al aumento de su utilización en la agricultura o a la introducción de nuevas prácticas agrícolas que podrían modificar su comportamiento en el suelo en relación al previsto y por otra parte al desarrollo de métodos de análisis con mayor sensibilidad que permiten determinar concentraciones cada vez más bajas de los mismos.

1.2. PROCESOS QUE AFECTAN A LOS PESTICIDAS EN EL SUELO

La aplicación de pesticidas en la agricultura conlleva una distribución de éstos en las distintas fases del ambiente: agua, aire, suelo, animales y plantas. La interacción de los pesticidas con cada una de estas fases es compleja y está controlada por numerosas reacciones físicas, químicas y/o biológicas que habitualmente no se suelen dar de modo aislado, sino simultáneo.

Cuando los pesticidas se incorporan al suelo, bien por aplicación directa, traspaso o accidente, su comportamiento medioambiental se ve influenciado por diversos procesos que se esquematizan en la Figura 4. El pesticida en cuestión entra por tanto, en un ecosistema dinámico en el cual empezará a moverse desde el sistema inicial a otros sistemas, o permanecerá en el lugar con su estructura original intacta o degradada en mayor o menor medida, en función del tiempo. En general, los procesos medioambientales que gobiernan el comportamiento y destino de un pesticida en el suelo se pueden clasificar en tres grupos (Navarro y col., 2007):

1. Procesos responsables de la **acumulación** de los pesticidas en el suelo. Este tipo de procesos implica el paso entre dos medios sin experimentar transformación química alguna permitiéndole al pesticida conservar la función para la cual ha sido diseñado. Dentro de este grupo se encuentran los procesos de **adsorción-desorción**.

2. Procesos responsables de la **eliminación** de los pesticidas en el suelo. Son procesos fotoquímicos, químicos o biológicos que implican una transformación de estos compuestos dando lugar a otros con distinta función, toxicidad y comportamiento que los originales. Dentro de estos procesos se encuentran los fenómenos de **degradación**.

3. Procesos responsables del **movimiento** de los pesticidas en el suelo. Al igual que los procesos de acumulación, no suponen ninguna transformación química del pesticida, pero se diferencian de este tipo de procesos en que existe un desplazamiento importante del pesticida respecto a su posición inicial. Dentro de estos procesos se encuentran los fenómenos de **lixiviación, escorrentía y volatilización**.

Estos procesos pueden tener lugar de manera individual o simultánea y dependen a su vez de los factores del medio, así como de las propiedades fisicoquímicas del suelo y de los pesticidas.

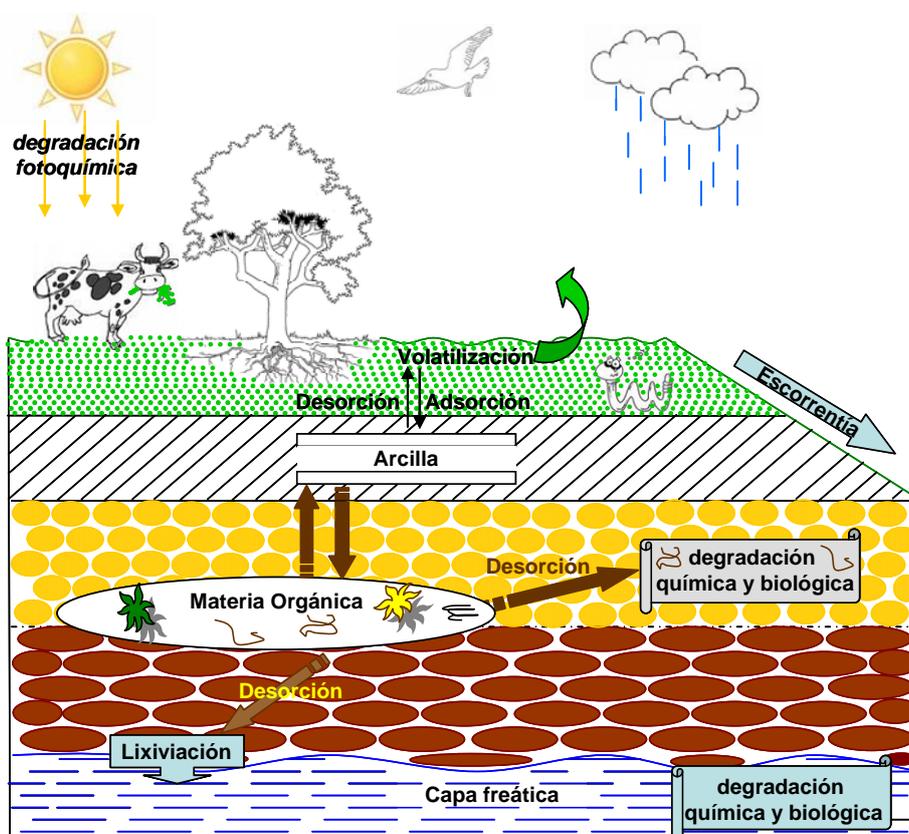


Figura 4. Procesos que determinan la dinámica de pesticidas en suelo

1.2.1. Procesos de acumulación: *Adsorción-desorción*

Adsorción es un proceso fisicoquímico que gobierna en gran medida el destino medioambiental de los pesticidas en el suelo (Kan y col., 1994; Gevaio y col., 2000; Huang y col., 2003). Se trata de un proceso por el cual las moléculas de un soluto (adsorbato) pasan desde la fase acuosa hasta la superficie de un sólido que actúa como sorbente (adsorbente) (Calvet, 1989). En este caso, las moléculas de pesticida serían el adsorbato y las partículas del suelo las de adsorbente. La adsorción es un fenómeno de naturaleza física (fisorción), cuando el adsorbato se enlaza al adsorbente mediante fuerzas atractivas débiles (generalmente fuerzas de van der Waals), o de naturaleza química (quimisorción), si se une mediante un enlace químico. La adsorción está íntimamente relacionada con la superficie específica y con las propiedades fisicoquímicas de las partículas del suelo y en consecuencia con el tamaño de las mismas. De ahí que la fracción coloidal sea la más activa en este proceso, es decir, la que tendrá mayor facilidad para retener moléculas de pesticidas.

El proceso de *desorción* es el fenómeno a través del cual el adsorbato es liberado de la superficie del adsorbente. El mecanismo de desorción del compuesto dependerá principalmente de la energía de adsorción. Cuanto mayor sea esta energía, más difícil será la desorción del pesticida y viceversa. De modo que se puede hablar de una adsorción reversible y de una adsorción irreversible en mayor o menor grado (Koskinen y Harper, 1990), según se produzca una desorción total o parcial de las moléculas adsorbidas, respectivamente.

El proceso de adsorción-desorción se considera de gran interés entre todos los procesos implicados en la evolución de pesticidas en el suelo citados anteriormente, ya que influyen directa o indirectamente en la magnitud y efecto de todos ellos al condicionar la cantidad de pesticida disponible en el suelo (Koskinen y Harper, 1990; Boesten y van der Linden, 1991). Es fácil comprender, por tanto, que la adsorción dificulte la lixiviación (Mazzoncini y Bonari, 1997), la volatilización (Chester y col., 1989; Taylor y Spencer, 1990) e incluso la biodegradación por microorganismos, ya que éstos no pueden degradar el pesticida si éste no está biodisponible. Se ha demostrado que los sustratos que no son accesibles a los microorganismos no son atacados o lo son más lentamente (Bollag y Liu, 1990). Mientras que, por el contrario, la desorción favorece que estos procesos se produzcan.

1.2.1.1. Mecanismos de interacción pesticida-adsorbente

Diversos mecanismos de interacción pesticida-adsorbente tales como *cambio iónico, enlace de hidrógeno, ión-dipolo y coordinación, transferencia de carga, fuerzas de van der Waals, intercambio de ligando y enlace hidrofóbico* (Senesi, 1992; Gevaio y col., 2000)

han sido descritos como implicados en la adsorción de pesticidas en suelos. Estos mecanismos están relacionados fundamentalmente con la estructura química del pesticida y con las propiedades de los componentes del suelo.

La adsorción mediante *cambio iónico* tiene lugar para las moléculas de pesticidas que se encuentran en forma catiónica (dicuat, paracuat), estas moléculas pueden ser adsorbidas por los minerales de la arcilla o por la materia orgánica mediante un proceso de cambio iónico. El enlace tiene lugar fundamentalmente por fuerzas electrostáticas. En general, la afinidad de las arcillas por los cationes orgánicos es mayor que por los cationes metálicos, aumentando esta afinidad con el tamaño molecular (Calvet y col., 1980). Algunas moléculas de pesticidas (triazinas) pueden convertirse en catiónicas por protonación después de ser adsorbidos por los minerales de la arcilla o la materia orgánica. Los protones necesarios para que este fenómeno tenga lugar pueden proceder de los cationes de cambio de los adsorbentes o del agua de hidratación de estos cationes de cambio. Es de esperar que el pH del medio sea un factor a tener en cuenta en este proceso como indicaron Weber y col. (1969) para explicar la adsorción máxima de compuestos básicos como los herbicidas triazínicos a valores de pH próximos a su valor de pK_a .

El *enlace de hidrógeno* juega un papel importante en la adsorción de pesticidas con grupos polares, tales como las ureas sustituidas o los fenilcarbamatos. Estas moléculas orgánicas pueden ser adsorbidas estableciendo un enlace de hidrógeno con moléculas de agua, con otras moléculas orgánicas o con los grupos hidroxilo o los oxígenos de la superficie de los minerales de la arcilla. En este tipo de interacción también es interesante el papel que juega el pH, ya que pesticidas aniónicos como el dicamba pueden interactuar con las sustancias húmicas del suelo mediante este tipo de enlace a valores de pH por debajo de su pK_a , para que el grupo $-COOH$ no se encuentre ionizado (Senesi y col., 1984).

El enlace vía *ión-dipolo o coordinación* se produce por interacción entre los grupos funcionales de las moléculas orgánicas de los pesticidas con carácter polar y los cationes de cambio de los minerales de la arcilla o de la materia orgánica. Con algunos cationes de cambio (metales de transición) puede tener lugar la formación de complejos de coordinación con las moléculas orgánicas con grupos polares capaces de dar electrones. Este tipo de enlace ha sido indicado para la adsorción de muchos pesticidas como los fenilcarbamatos, fenilureas e insecticidas organofosforados (Sánchez-Martín y Sánchez-Camazano, 1984; Senesi, 1992).

La interacción por *transferencia de carga* requiere la presencia de una especie donadora de electrones y de otra aceptora de electrones para formar un complejo donador-aceptor. Tanto las características de los pesticidas como la de los constituyentes aislados del suelo, pueden permitir la existencia de este tipo de interacciones en el proceso de adsorción. Los pesticidas bipiridínicos, paracuat y dicuat, establecen este tipo de interacción con los ácidos húmicos del suelo (Gevao y col., 2000).

Las *fuerzas de van der Waals* consisten en interacciones electrostáticas débiles cuya energía es inversamente proporcional a la sexta potencia de la distancia entre los átomos que interactúan, de modo que son interacciones de corto alcance. Las interacciones entre pesticidas no iónicos y no polares con las moléculas de ácido húmico del suelo son de particular relevancia. Son fuerzas aditivas a otros tipos de interacciones (Senesi, 1992) y su contribución aumenta con el tamaño de la molécula orgánica y con su capacidad para adaptarse a la superficie del adsorbente.

El tipo de interacción de *intercambio de ligando* se basa en la sustitución de moléculas de agua de hidratación u otros ligandos débiles, parcialmente unidos a cationes polivalentes asociados a la materia orgánica del suelo o a los minerales de la arcilla, por moléculas de adsorbato, tales como pesticidas aniónicos (Senesi, 1992).

El enlace *hidrofóbico* es un mecanismo propuesto para la retención de pesticidas no polares que interactúan débilmente con agua, por superficies hidrofóbicas principalmente de la materia orgánica del suelo, aunque también se pueden incluir los enlaces -Si-O-Si- de las superficies minerales. Este tipo de interacción se considera un importante mecanismo de adsorción para diferentes pesticidas (Gevao y col., 2000).

1.2.1.2. Factores que influyen en la adsorción de pesticidas por los suelos

Los factores más importantes que influyen en la extensión de la adsorción de pesticidas por los suelos son: las propiedades fisicoquímicas del suelo, las propiedades moleculares del pesticida y los factores del medio (Bintein y Deviller, 1994; Sonon y Schwab, 1995; Fushiwaki y Urano, 2001).

Propiedades fisicoquímicas del suelo

Muchas son las propiedades fisicoquímicas del suelo implicadas en la adsorción de pesticidas por los suelos. Entre las más importantes se encuentran la *estructura, humedad, textura, contenido en arcilla y en materia orgánica, y el pH del suelo*.

La *estructura de un suelo* describe la forma de agregarse las partículas individuales del mismo en unidades de mayor tamaño (agregados) y el espacio de los huecos asociado a ellas, determinando las vías de movimiento del agua y de otras sustancias como los pesticidas y las interacciones entre el suelo y el pesticida. Es necesario que existan interacciones suelo-pesticida para que se dé el fenómeno de adsorción, de modo que todo proceso que dificulte o impida que estas interacciones se produzcan limitará o evitará que tenga lugar este proceso. Así por ejemplo, la presencia de grietas o canales en el suelo, frecuente en suelos arcillosos, origina fenómenos de flujo preferencial (Jarvis, 1998), que disminuyen el fenómeno de adsorción al disminuir el tiempo de contacto pesticida-partículas de suelo.

La adsorción de las moléculas de pesticidas por las partículas del suelo depende de la **humedad del suelo**, ya que el agua es necesaria para el movimiento de los pesticidas y las moléculas de agua competirán con las moléculas de pesticida por ocupar los lugares de adsorción. El descenso del contenido en agua del suelo fuerza al pesticida a interactuar con la superficie del mismo. Por eso, la adsorción tiende a ser mayor en suelos secos que en suelos húmedos (Calvet, 1989).

La **textura del suelo** es un factor determinante de la cantidad de agua que lixivia. Suelos con alto contenido en arena y gravas (texturas gruesas) poseen poros de gran tamaño que favorecen el proceso de lixiviación y disminuyen el de adsorción como consecuencia de la rápida circulación del agua y pesticidas. En cambio, suelos ricos en materia orgánica y arcilla (texturas finas) presentan poros más finos que favorecen el proceso de adsorción en detrimento del proceso de lixiviación ya que tienen más lugares donde se pueden enlazar los pesticidas. Aunque hay que tener en cuenta que el proceso de lixiviación puede verse de nuevo favorecido por la frecuente aparición de grietas y canales en suelos arcillosos.

La **fase sólida del suelo** está constituida por materiales orgánicos e inorgánicos. La adsorción de compuestos orgánicos y/o pesticidas por los suelos, es debida a sus constituyentes inorgánicos y orgánicos, principalmente de pequeño tamaño (coloides) y alta superficie específica. Actualmente está aceptado que **la materia orgánica y los minerales de la arcilla** son los principales constituyentes del suelo involucrados en la adsorción de los pesticidas (Koskinen y Harper, 1990; Andrades y col., 2001). La importancia relativa de cada uno de estos componentes depende en gran medida de las características químicas y estructurales del compuesto orgánico en cuestión.

Los **minerales de la arcilla** juegan un papel importante principalmente en la adsorción de pesticidas orgánicos iónicos y polares (Sánchez-Martín y Sánchez-Camazano, 1984; Kookana y Aylmore, 1993). Algunos pesticidas son inactivados después de su adsorción por estos minerales pudiendo ser incluso degradados posteriormente (Gavrilescu, 2005). La elevada superficie específica ($1 - 800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) de las arcillas es lo que les aporta ese papel adsorbente de pesticidas.

La **materia orgánica del suelo** juega un papel importante en la adsorción de pesticidas y puede ser clasificada, en líneas generales, en sustancias no húmicas y húmicas. La capacidad de adsorción de la materia orgánica aumenta con el grado de humificación. La presencia de grupos funcionales que contienen oxígeno en estas sustancias húmicas (grupos carboxílicos, fenólicos, alifáticos, enólicos, -OH, carbonilos y estructuras aromáticas) son fundamentales para establecer interacciones con las moléculas orgánicas de los pesticidas (Stevenson, 1994). Por otra parte, algunos estudios ponen también de manifiesto que la materia orgánica disuelta puede facilitar el transporte de pesticidas (Gigliotti y col., 2005; Cox y col., 2007; Delgado-Moreno y col., 2010), bien mediante el establecimiento de fuertes interacciones entre la materia orgánica disuelta y el

pesticida (Müller y col., 2007) o bien mediante un fenómeno de competencia por los lugares activos del suelo (Cox y col., 2004; Fernandes y col., 2006).

La importancia del **pH del suelo** en la adsorción de pesticidas dependerá de la naturaleza química de éstos, de los constituyentes del suelo y del tipo de enlaces que se establezcan en la adsorción. La adsorción presenta un máximo para los valores de pH próximos al pK_a del pesticida, pero este máximo también depende de otras propiedades (Barriuso y col., 1992a). Los cambios que con el tiempo sufre el pH del suelo debidos a las diferentes prácticas de cultivo (fertilización, irrigación, etc.) pueden afectar eventualmente al comportamiento de los pesticidas aplicados al suelo (Kookana y col., 1998), ya que el pH influye en la solubilidad de los pesticidas y en la extensión de los procesos biológicos que podrían afectar a la adsorción y degradación de los mismos.

Propiedades del pesticida

Existe una estrecha relación entre la adsorción de un pesticida y sus propiedades, tales como su **solubilidad**, **volatilidad**, **persistencia**, **estado iónico** y **características estructurales**.

La **solubilidad** en agua de un pesticida o cantidad máxima de pesticida que puede disolverse en una cantidad determinada de agua y a una temperatura dada, determina la facilidad del mismo para "lavarse" de los cultivos, lixiviarse en el suelo o moverse por escorrentía superficial. Los pesticidas con solubilidades de menos de 1 mg L^{-1} tienden a permanecer sobre la superficie del suelo, mientras que pesticidas con solubilidades mayores de 30 mg L^{-1} son considerados móviles en el agua. El coeficiente de partición octanol/agua (K_{ow}) se utiliza para expresar la hidrofobicidad del compuesto (Doménech, 2000).

La **volatilidad** de un pesticida está íntimamente ligada a su solubilidad en agua, de modo que la volatilidad de un pesticida disminuye con una alta solubilidad, favoreciendo la permanencia del pesticida en el suelo.

La **persistencia** se puede definir como la tendencia de un compuesto dado, un pesticida en este caso, para conservar su integridad molecular y química, sus características físicas y funcionales en un medio a través del cual es transportado y distribuido después de ser aplicado en el medio ambiente. Desde el punto de vista agronómico, es una característica deseable de los pesticidas, mientras que es indeseable desde un punto de vista medioambiental debido a su toxicidad para los seres humanos, animales domésticos, peces, otros organismos acuáticos, etc. La persistencia de un pesticida se expresa en unidades de tiempo: horas, días, semanas, meses e incluso años y el término empleado para expresar la persistencia es el tiempo de vida media (DT_{50}) o tiempo necesario para que la mitad del pesticida originalmente depositado en el suelo se disipe o

degrade. Se habla de pesticidas no persistentes si su $DT_{50} < 30$ días, moderadamente persistentes si oscila entre 30-100 días y persistentes si son estables en el suelo durante un período mayor de 100 días (Gavrilescu, 2005). Un pesticida que se degrade rápidamente es menos probable que lixivie debido a que su permanencia en el suelo es durante un corto período de tiempo.

La adsorción de un pesticida por el suelo se ve influenciada por el **estado del compuesto** (catiónico, neutro o aniónico). La adsorción de pesticidas catiónicos por el suelo se ve favorecida frente a la de los pesticidas aniónicos como consecuencia de la repulsión que presentan estos últimos al interaccionar con las cargas negativas de la materia orgánica y de la arcilla, quedando de este modo más expuestos a los fenómenos de lixiviación (Dubus y col., 2001). Del mismo modo, el pH del medio y el pK_a del pesticida juegan un papel importante en la adsorción del compuesto, ya que estos dos parámetros son los responsables de que el pesticida se encuentre en forma iónica, catiónica o aniónica, o neutra.

Dentro de las **características estructurales** hay que destacar la reactividad de los grupos funcionales que presenta el compuesto o la facilidad de convertirse en reactivos en función de factores como el pH, que puede hacer que la adsorción tenga lugar en mayor o menor extensión, o en que ésta no tenga ni tan siquiera lugar. Otras características estructurales importantes del pesticida son su tamaño molecular, el cual si es grande, puede dificultar por impedimento estérico la interacción del pesticida con los lugares de adsorción. La distribución de carga en la molécula, que es función del tipo de átomos que constituyen el compuesto, es otro factor importante en la reactividad del pesticida.

Factores del medio

Existen otro tipo de factores que afectan a la adsorción de los pesticidas por el suelo, son los factores del medio, tales como **temperatura, pluviosidad, régimen de vientos o prácticas de cultivo**, entre otros.

El proceso de adsorción se ve disminuido al aumentar la **temperatura** porque se trata de un proceso exotérmico (Clark, 1974) y porque se ven favorecidos los procesos de volatilización como consecuencia del aumento del proceso de desorción, al tratarse este último de un proceso endotérmico. La adsorción de los pesticidas por el suelo se ve disminuida como consecuencia de su disolución en el agua de **lluvia** si ésta tiene lugar de modo intenso y poco después de la aplicación de los pesticidas a los cultivos. Así por ejemplo, Elliott y col. (2000) observaron la presencia de pesticidas con valores de $K_{co} \geq 1000$ en aguas subterráneas y de drenaje presumiblemente como resultado de su lixiviación causada por fuertes lluvias poco después de su aplicación en suelos húmedos que presentaban además vías de flujo preferencial. Las fuertes rachas de **viento** favorecen los procesos de volatilización de los pesticidas en detrimento de los procesos de adsorción, especialmente si tienen lugar poco después de la aplicación de los pesticidas.

Las *prácticas de cultivo* que implican la adición de residuos orgánicos al suelo como enmiendas es una práctica cada vez más extendida para evitar el empobrecimiento de los suelos en materia orgánica y la disminución de la fertilidad de los mismos. Sin embargo, estos materiales pueden aumentar o disminuir la adsorción de los pesticidas cuando coexisten con ellos en el suelo dependiendo de su composición en materia orgánica sólida o disuelta (Iglesias-Jiménez y col., 1997; Morillo y col., 2002; Andrades y col., 2004).

1.2.2. Procesos de eliminación: *Degradación*

La transformación o *degradación* de un pesticida es el proceso que mayor pérdida de compuesto puede originar después de su aplicación. Un pesticida es susceptible a tres tipos de descomposición: microbiológica, química y fotoquímica (Ward y Singh, 2004; Chen y col., 2005).

La *degradación microbiológica* de pesticidas en el suelo la llevan a cabo hongos, bacterias y otros microorganismos que obtienen alimento y energía para su crecimiento por descomposición de estos compuestos orgánicos, sobre todo cuando carecen de otras fuentes. Se estima que entre 5000 y 7000 especies diferentes de bacterias pueden existir en un gramo de suelo fértil (Gavrilescu, 2005), pudiendo exceder los cien millones de individuos por gramo de suelo y los diez mil individuos si se habla de las colonias de hongos. La gran versatilidad de los microorganismos ha llevado a muchos autores a considerar la degradación microbiológica como un sistema económico, simple y respetuoso con el medioambiente de biorremediación de pesticidas en suelos. Se han escrito numerosas publicaciones y revisiones sobre biodegradación de pesticidas y otros compuestos orgánicos en suelos y aguas (Khan, 1980; Alexander, 1994; Arias-Estévez y col., 2008).

La degradación microbiológica puede dividirse en tres tipos atendiendo a la velocidad del proceso: 1) La biodegradación comienza inmediatamente y los compuestos son fácilmente utilizados como fuente de energía y crecimiento (degradación inmediata), 2) La biodegradación comienza lentamente y requiere un proceso de aclimatación tras el cual se produce una rápida degradación y 3) La biodegradación es lenta o ni tan siquiera ocurre permitiendo considerar al compuesto como persistente frente a la degradación microbiológica.

Aunque en este caso la *degradación química* se presenta separada de la degradación microbiológica, en muchos casos es difícil distinguir entre estos dos procesos. Para hacerlo sería necesario eliminar los microorganismos del suelo mediante técnicas de radiación o esterilización apropiadas. También es cierto que las reacciones químicas de degradación de pesticidas, salvo en algunos casos, tienen menos importancia ambiental que las biológicas, puesto que la tasa de reacción es más lenta debido a la competición de los oxidantes por la materia orgánica presente en el suelo. Entre otros procesos químicos implicados en este tipo de degradación se encuentran los

procesos de oxidación, reducción, deshidrohalogenación, y especialmente de hidrólisis (Wolfe y col., 1990).

La exposición de los pesticidas presentes en la superficie o capas superficiales del suelo a la luz solar puede también dar lugar a la **degradación fotoquímica** de éstos (Miller y Zepp, 1983). Según Gavrilescu (2005) todos los pesticidas, en algún grado, son susceptibles a este tipo de degradación.

1.2.2.1. Factores que influyen en la degradación de pesticidas en suelos

La determinación del comportamiento de un pesticida ante los procesos de degradación en el suelo es de gran importancia, ya que aunque en la mayoría de los casos los compuestos generados en la degradación de un pesticida no son tóxicos o son menos tóxicos para el medioambiente que el compuesto original, en otras ocasiones, estos compuestos pueden ser más peligrosos, ya sea por su mayor toxicidad, movilidad, tiempo de vida, bioacumulación, etc. (Aksu, 2005). Por ello, es importante conocer los factores que influyen en la degradación de los pesticidas en el suelo, teniendo siempre en cuenta que en función del tipo de degradación que se considere, microbiológica, química o fotoquímica, los factores que influirán en la extensión de la degradación serán principalmente unos u otros.

El nivel de **degradación** de los pesticidas por **microorganismos** varía dependiendo de factores como las propiedades químicas del pesticida, propiedades fisicoquímicas del suelo (temperatura, humedad, pH, aireación, contenido en materia orgánica, etc.), las condiciones ambientales y la frecuencia de aplicación del pesticida. La actividad microbiana es alta en suelos cálidos, húmedos y con pH neutro (Gavrilescu, 2005). La degradación microbiológica puede ir desde pequeñas transformaciones que no afectan significativamente a las propiedades químicas o toxicológicas del pesticida (cometabolismo o proceso de transformación en otros compuestos químicos), hasta procesos de mineralización que degradan el pesticida hasta la obtención de CO_2 , H_2O , NH_4^+ , Cl^- , etc. La actividad metabólica puede darse según los factores expuestos, rápidamente (horas) o ser una actividad muy lenta (años).

Teniendo en cuenta que las principales reacciones químicas implicadas en la **degradación química** o abiótica de los pesticidas en suelos son hidrólisis, oxidación-reducción e ionización, el principal factor que influirá en la extensión de este tipo de degradación será el pH del suelo.

Los factores que influyen en la **degradación fotoquímica** de los pesticidas en el suelo son las propiedades del pesticida, así como las características del suelo tales como la textura, compactación del suelo, etc., ya que dependiendo de estas características la luz puede penetrar desde 0.001 a 0.01 m en el suelo y afectar en menor o mayor grado a la degradación de los pesticidas. La duración, la intensidad de la luz solar y el tiempo de exposición como es lógico, son

otros factores a tener en cuenta en este tipo de procesos. Finalmente, el método de aplicación del pesticida es muy importante ya que aquellos pesticidas que se aplican al follaje o a la superficie del suelo son más susceptibles a la fotodegradación que los pesticidas que son incorporados dentro del suelo.

1.2.3. Procesos de movimiento: *Lixiviación, Escorrentía y Volatilización*

La *lixiviación* es el movimiento vertical de los pesticidas a través del perfil del suelo como consecuencia de su disolución en el agua de lluvia o del riego de los cultivos. El proceso de lixiviación está considerado como el principal responsable de la contaminación de las aguas subterráneas por pesticidas. Este proceso está asociado a dos clases de fenómenos (Cohen y col., 1995; Whitford y col., 1995): *Flujo preferencial* que permite el movimiento rápido de las moléculas de pesticidas en el agua a través de los macroporos del suelo (favorece el movimiento vertical de los pesticidas en el suelo) y *Flujo matricial* que permite el movimiento lento de las moléculas de pesticidas en el agua a través de los microporos del suelo y por tanto, mayor tiempo de contacto con las partículas del mismo, facilitando la difusión en el medio (proceso responsable del movimiento lateral del pesticida en el suelo).

El fenómeno de *escorrentía* se presenta cuando el agua aplicada a un suelo, ya sea por fuertes lluvias o por una excesiva irrigación, supera la capacidad de infiltración del mismo. Cuando esto ocurre, los pesticidas son transportados superficialmente, disueltos en el agua o ligados a partículas coloidales del suelo, desde las zonas agrícolas hasta las aguas superficiales que son contaminadas. La escorrentía depende de una serie de factores, encontrándose entre los más importantes la pendiente del suelo, la formulación del pesticida y el tiempo desde su aplicación, la estabilidad estructural del suelo, la presencia de cubierta vegetal, la intensidad de la lluvia, las características fisicoquímicas de la molécula en cuestión y su grado de adsorción (Cohen y col., 1995). La proporción de pérdida de pesticidas mediante escorrentía superficial es directamente dependiente de la concentración del pesticida en unos pocos centímetros de la superficie del suelo, y la pérdida total en cada evento de escorrentía disminuye exponencialmente con el tiempo (Leonard, 1990). Según Reichenberger y col. (2007), los pesticidas con una adsorción intermedia son más propensos a sufrir pérdidas por escorrentía superficial que los compuestos débilmente adsorbidos en el suelo, ya que éstos últimos se lixivian rápidamente a través del suelo desde la superficie, por infiltración, con el agua de lluvia.

En términos de balance de masa, la pérdida de pesticidas mediante escorrentía superficial es generalmente pequeña, una media de un 2% de la masa aplicada (Carter, 2000). Sin embargo, bajo condiciones de lluvia simulada se han registrado pérdidas superiores al 10% (Kookana y col., 1998).

La pérdida de pesticidas desde las plantas, suelo o agua superficial, en forma de vapor se denomina **volatilización**. La importancia ecológica y económica de este proceso lo refleja la cantidad de investigaciones sobre el tema llevadas a cabo en los últimos años (Neumans y col., 2000; Voutsas y col., 2005). El potencial de volatilización de un pesticida viene dado por el valor de su constante (H) de la Ley de Henry (Widenfalk, 2002) ($H = \text{Presión de vapor} / \text{Solubilidad}$). Un valor de $H > 10^{-5}$ indica una gran tendencia del pesticida para volatilizarse y al contrario si el valor de $H < 10^{-5}$. Para algunos compuestos altamente volátiles la pérdida de pesticida mediante este proceso puede llegar a ser hasta del 90% de la masa aplicada (Taylor y Spencer, 1990). La volatilización de pesticidas depende de factores climáticos, de las características del suelo y de su modo de aplicación.

1.2.3.1. Factores que influyen en la movilidad de pesticidas en suelos

La determinación de la lixiviación de un pesticida en el suelo es de gran importancia ya que, su mayor o menor degradación, dependerá del tiempo de permanencia del compuesto en las capas superiores del suelo, teniendo en cuenta que este último proceso es mayor a menor profundidad (Gavrilescu, 2005).

La lixiviación de los pesticidas en suelos depende de las propiedades fisicoquímicas del suelo y de los pesticidas, del método, el rango y el tiempo de su aplicación, de las características del emplazamiento, de las condiciones medioambientales (temperatura, lluvia, etc.) y de la velocidad de degradación. El factor más importante que influye en la lixiviación de los pesticidas es el **grado de adsorción** de los pesticidas sobre las partículas de suelo. En general, la mayor adsorción de pesticidas supone la menor disponibilidad de estos para la lixiviación. Así, para suelos con alto contenido en materia orgánica se espera una menor lixiviación como consecuencia del aumento de la adsorción (Chesters y col., 1989). Entre los factores indicados anteriormente y ampliamente desarrollados en el apartado correspondiente a los factores que influyen en la adsorción de pesticidas por los suelos, es importante destacar que pesticidas con una alta solubilidad en agua se moverán mejor a través del suelo, especialmente en suelos más permeables, mientras que un pesticida que es rápidamente degradado, es menos probable que lixivie porque es posible que permanezca en el suelo durante un corto período de tiempo. Según Flury (1996), entre menos del 0.1% y el 1% de la cantidad anual de pesticidas añadidos a los cultivos se pierden por lixiviación, pudiendo llegar al 5% en función de la frecuencia de lluvia.

1.3. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LOS PROCESOS IMPLICADOS EN LA DINÁMICA DE LOS PESTICIDAS EN EL SUELO

1.3.1. Estudio de la adsorción-desorción de pesticidas en suelos

Una de las técnicas experimentales más utilizadas para evaluar la adsorción de los pesticidas por el suelo es determinar su **isoterma de adsorción**, por la cual se establece la relación entre la cantidad del pesticida (adsorbato) (C_s) adsorbida por el suelo (adsorbente) a diferentes concentraciones iniciales, y la concentración en equilibrio (C_e) en contacto con este último a una temperatura constante (Konda y col., 2002). La cantidad de adsorbato adsorbida se determina en condiciones de equilibrio como la diferencia entre la cantidad inicialmente presente en la solución (C_i) y la existente en la solución de equilibrio (C_e) tras poner en contacto una cantidad determinada de adsorbente (m) y un volumen (V) de la disolución de adsorbato de concentración C_i . Para calcular la cantidad adsorbida (C_s) por unidad de masa de adsorbente se utiliza la siguiente expresión:

$$C_s = \frac{(C_i - C_e) \times V}{m}$$

Giles y col. (1960) clasificaron las isotermas de adsorción en disolución acuosa en cuatro tipos diferentes de acuerdo con su forma geométrica (Figura 5). La forma de la isoterma, y más concretamente la pendiente inicial de la curva, aporta información sobre el mecanismo de adsorción, ya que depende de la afinidad del adsorbato por los centros activos disponibles en el adsorbente. Los cuatro tipos principales de isotermas son los siguientes:

Isoterma tipo L (Langmuir): este tipo de isoterma presenta una forma inicial cóncava respecto al eje de las concentraciones. Se presenta cuando el adsorbente tiene mayor afinidad por el soluto (pesticida) que por el solvente a bajas concentraciones de equilibrio y viceversa a elevadas concentraciones de equilibrio. Esto se explica mediante una disminución de lugares disponibles para la adsorción cuando aumenta la concentración de soluto en la solución. La adsorción sobre diferentes sustratos, minerales u orgánicos, de cationes orgánicos, pesticidas y otras moléculas con baja o alta solubilidad en agua se ajusta a este tipo de isoterma, que se encuentra frecuentemente en la bibliografía (Sánchez-Martín y col., 2000, 2006; Sánchez y col., 2003a).

Isoterma tipo S (adsorción cooperativa): este tipo de isoterma presenta una forma inicial convexa respecto al eje de las concentraciones. Se presenta cuando el suelo tiene menor afinidad por el soluto (pesticida) que por el solvente, en general agua, de modo que implica una fuerte competencia entre las moléculas de soluto y el solvente por los lugares disponibles de adsorción. La adsorción se ve favorecida con el aumento de la concentración de soluto en la fase líquida. Según la bibliografía, las isotermas tipo S se observan frecuentemente en estudios de adsorción de pesticidas

con esmectitas (esencialmente montmorillonitas) y también con otros tipos de arcillas (Sánchez-Camazano y col., 1994; 2000).

Isoterma tipo C (constante de partición): este tipo de isoterma se presenta cuando el adsorbente tiene la misma afinidad por el soluto que por el solvente. Se caracteriza por la existencia de una relación lineal a todas las concentraciones entre la cantidad de soluto adsorbido y la concentración del mismo en la solución de equilibrio. En la bibliografía se observa que este tipo de isoterma se presenta en la adsorción de moléculas hidrofóbicas por suelos, por materia orgánica o ácidos húmicos del suelo (Sánchez y col., 2003a; Filipe y col., 2009).

Isoterma tipo H (alta afinidad): este tipo de isoterma se presenta cuando el adsorbente tiene una gran afinidad por el soluto, de modo que a bajas concentraciones se adsorbe todo y la concentración en el equilibrio será próxima a cero, una vez saturada la superficie del adsorbente, el soluto en exceso permanecerá en solución. Esto se traduce en una isoterma con una forma inicial vertical y finalmente paralela al eje de concentraciones. Se considera un caso especial de isoterma tipo L. La adsorción de los iones bupiridinio por arcillas y por ácidos húmicos da este tipo de isotermas (Calvet y col., 1980).

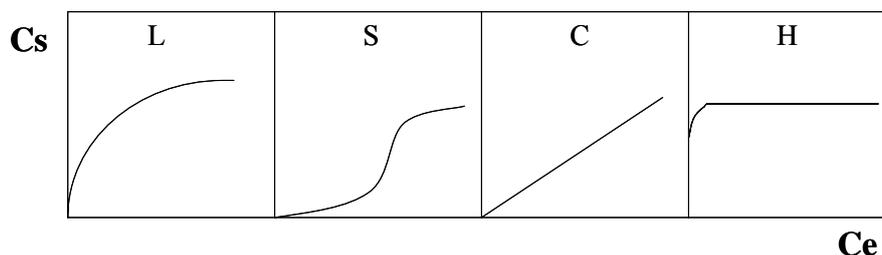


Figura 5. Tipos de isotermas de adsorción de acuerdo con la clasificación de Giles y col. (1960)

Modelización de la adsorción-desorción de pesticidas en suelos

Varios son los modelos que se han desarrollado para la interpretación de los resultados experimentales de las isotermas de adsorción. Los más usados fueron descritos por Freundlich (1909) y Langmuir (1918). Generalmente, las isotermas experimentales de adsorción de pesticidas por suelos o por sus componentes coloidales, arcilla y materia orgánica, se ajustan bien a la ecuación empírica de Freundlich, que viene dada por la siguiente expresión:

$$C_s = K_f C_e^{nf}$$

donde C_s ($\mu\text{g g}^{-1}$) es la cantidad de pesticida adsorbido por unidad de masa de adsorbente, C_e ($\mu\text{g mL}^{-1}$) es la concentración de equilibrio del pesticida en la solución, y K_f ($\mu\text{g}^{1-n_f} \text{ mL}^{n_f} \text{ g}^{-1}$) y n_f son dos constantes características de la capacidad de adsorción del pesticida por el suelo. Los valores de estas dos constantes se determinan a partir de la forma lineal de esta ecuación, que presenta la siguiente forma:

$$\log C_s = \log K_f + n_f \log C_e$$

La constante n_f refleja la variación de la adsorción con la concentración (curvatura de la isoterma). Mientras, K_f es la cantidad de pesticida adsorbido para una concentración de equilibrio igual a la unidad ($C_e = 1 \mu\text{g mL}^{-1}$) y representa la adsorción a bajo nivel de concentración. Cuando se quiere conocer la adsorción a un nivel de concentración mayor, se calcula el coeficiente de distribución, K_d (mL g^{-1}), que mide la relación entre la concentración del pesticida en el suelo y en solución en condiciones de equilibrio para una concentración de equilibrio dada mediante la siguiente expresión:

$$K_d = \frac{C_s}{C_e}$$

Estos parámetros se utilizan habitualmente para comparar la capacidad de adsorción de un adsorbente para un adsorbato.

Mientras que la isoterma de Freundlich se utiliza cuando la adsorción del compuesto tiene lugar en una superficie heterogénea (Calvet, 1989), el otro modelo más utilizado para el estudio de las isotermas de adsorción, el de Langmuir, describe la adsorción en una superficie homogénea, en la que el proceso de adsorción se localiza en una monocapa. Según este modelo, la cantidad de pesticida adsorbido por unidad de masa de suelo (C_s , $\mu\text{g g}^{-1}$) y la concentración de equilibrio del pesticida en la solución (C_e , $\mu\text{g mL}^{-1}$) están relacionados mediante la siguiente expresión:

$$C_s = \frac{K_1 K_2 C_e}{1 + K_2 C_e}$$

donde K_1 y K_2 son dos constantes características de la adsorción del adsorbato por el adsorbente. K_1 es una constante que representa la cantidad de adsorbato correspondiente a una monocapa de la superficie ($\mu\text{g g}^{-1}$) y K_2 es un indicador de la intensidad de adsorción y representa la magnitud de la pendiente inicial de la isoterma. Los valores K_1 y K_2 pueden obtenerse del ajuste lineal de los datos (C_e / C_s) vs C_e de la ecuación anterior expresada en su forma lineal:

$$\frac{C_e}{C_s} = \frac{C_e}{K_1} + \frac{1}{K_1 K_2}$$

La desorción de un pesticida previamente adsorbido por un suelo se estudia mediante una serie de lavados sucesivos del suelo con agua y midiendo la concentración de pesticida en la solución de equilibrio. El modelo de Freundlich es válido para la interpretación de los resultados experimentales del proceso de desorción bajo la forma de la expresión:

$$C_s = K_{fd} C_e^{n_{fd}}$$

donde C_s ($\mu\text{g g}^{-1}$) es la cantidad de pesticida que queda adsorbido por unidad de masa de adsorbente después de cada desorción, C_e ($\mu\text{g mL}^{-1}$) es la concentración de equilibrio del pesticida en la solución, y K_{fd} ($\mu\text{g}^{1-n_{fd}} \text{ mL}^{n_{fd}} \text{ g}^{-1}$) y n_{fd} son dos constantes características del proceso de desorción del pesticida por el suelo. De modo análogo al proceso de adsorción, los valores de estas dos constantes se determinan a partir de la forma lineal de esta ecuación, que presenta la siguiente forma:

$$\log C_s = \log K_{fd} + n_{fd} \log C_e$$

La interacción entre un pesticida y el suelo no siempre ocurre mediante enlaces débiles o reversibles, sino todo lo contrario, quedan retenidos mediante enlaces fuertes e irreversibles que impiden que la desorción sea completa. Cuando los datos de desorción no coinciden con los de la isoterma de adsorción, las isotermas obtenidas muestran histéresis de la desorción en mayor o menor grado. Debido a este efecto de no singularidad, la curva de desorción no termina en el punto de adsorción cero cuando la concentración de equilibrio tiende a cero, y el efecto es un aumento aparente en la constante K_{fd} en relación con la constante K_f (Cheng, 1990). Diferentes autores (Essington, 2004) han indicado como una causa potencial para explicar la no singularidad de las isotermas de adsorción la irreversibilidad del proceso de adsorción del compuesto y han propuesto un coeficiente de histéresis (H) (Barriuso y col., 1994) como una medida de dicha irreversibilidad que se cuantifica mediante la expresión:

$$H = \frac{n_f}{n_{fd}}$$

Según Barriuso y col. (1994), la adsorción es reversible cuanto más semejante sean las constantes n_f y n_{fd} , y más irreversible cuanto mayor sea n_f con respecto a n_{fd} , hablándose de la inexistencia de histéresis (adsorción reversible) cuando $n_f / n_{fd} = 1$, de histéresis positiva cuando la relación $n_f / n_{fd} > 1$ y de histéresis negativa cuando la relación $n_f / n_{fd} < 1$.

1.3.2. Estudio de la degradación de pesticidas en suelos

El estudio de la degradación de pesticidas en suelos puede llevarse a cabo mediante la medida a diferentes tiempos de la concentración remanente del compuesto en el suelo después de un proceso de incubación a temperatura y humedad controlada tras su aplicación. La

representación de dicha concentración, expresada habitualmente como porcentaje de la cantidad de pesticida aplicada inicialmente al suelo, frente al tiempo, permite determinar mediante el ajuste de los datos a ecuaciones adecuadas, los parámetros correspondientes a la cinética de degradación del pesticida, constante de velocidad de degradación k y tiempo de vida media (DT_{50}) o tiempo para que se disipe el 50% de la concentración inicial de pesticida en el suelo bajo unas determinadas condiciones de incubación. Estos parámetros permiten estimar la persistencia de un compuesto en el suelo y son necesarios en modelos matemáticos que simulan el comportamiento de pesticidas en suelos.

Modelización de la degradación de pesticidas en suelos

Diferentes ecuaciones matemáticas son usadas habitualmente para ajustar los resultados experimentales y obtener los parámetros cinéticos característicos de la degradación de los pesticidas. El **modelo cinético de primer orden (SFO)** es uno de los más empleados como se observa en la bibliografía (Ma y col., 2000; Beulke y Brown, 2001; Mamy y col., 2005; Rodríguez-Cruz y col., 2011a) y está definido por una ecuación exponencial simple con sólo dos parámetros. Este modelo asume que el número de moléculas de pesticida es pequeño en relación al número de microorganismos y enzimas capaces de degradarlo. Como consecuencia, la velocidad de cambio en la concentración del pesticida (dC/dt) a cualquier tiempo es directamente proporcional a la concentración presente en el sistema. Para las cinéticas de primer orden, el tiempo para que la concentración disminuya en una cierta proporción es constante a lo largo del experimento e independiente de la concentración inicial del pesticida. La ecuación que define la cinética de primer orden es:

$$\frac{dC}{dt} = -kC$$

y la forma integrada de la ecuación es:

$$C = C_0 \times e^{-kt}$$

donde C es la concentración de pesticida a tiempo t , C_0 es la concentración inicial de pesticida a tiempo 0 y k es la velocidad de disipación. La vida media (DT_{50}) se calculó utilizando la ecuación:

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k}$$

La degradación no siempre puede ser descrita por cinéticas de primer orden. Un descenso inicial rápido en las concentraciones de pesticida va, a menudo, seguido por un descenso más lento. Esto es habitualmente definido como un comportamiento bifásico en la degradación del pesticida. Existen varios modelos bifásicos como el propuesto por Gustafson y Holden (1990), el

modelo de palo de hockey, el modelo biexponencial o la ecuación de Hoerl (Beulke y Brown, 2001).

Gustafson & Holden (1990) definieron el suelo como un medio heterogéneo espacialmente variable, admitiendo como poco probable que la degradación ocurra a la misma velocidad dentro de espacios individuales de la muestra de suelo bajo investigación. Dividieron el suelo en un gran número de sub-compartimentos sin conexión, cada uno de los cuales presenta una velocidad de degradación de primer orden diferente. La distribución de estos coeficientes de velocidad da lugar a una ecuación relativamente simple con sólo tres parámetros y muestra un comportamiento bifásico de degradación del pesticida en el suelo. Este modelo se conoce también como **modelo cinético de primer orden multi-compartimental (FOMC)**. Sin embargo, la ecuación que define la cinética de primer orden multicompartmental no es idéntica a la ecuación original propuesta por Gustafson & Holden (1990). El parámetro β del modelo FOMC corresponde al valor recíproco ($1 / \beta$) de la ecuación original. La ecuación diferencial que define el modelo FOMC es:

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{\alpha}{\beta} C \left(\frac{t}{\beta} + 1 \right)^{-1}$$

y la forma integrada de la ecuación es:

$$C = \frac{C_0}{\left(\frac{t}{\beta} + 1 \right)^\alpha}$$

donde C es la concentración de pesticida a tiempo t, C_0 es la concentración inicial de pesticida a tiempo 0, α es un parámetro de forma determinado por el coeficiente de variación de los valores de las constantes de primer orden y β es un parámetro de localización. La vida media (DT_{50}) se calculó utilizando la ecuación:

$$DT_{50} = \beta \left(2^{1/\alpha} - 1 \right)$$

Atendiendo a esta ecuación, la disipación es más rápida para valores mayores de α y para valores más pequeños de β . Una clara ventaja del modelo de Gustafson & Holden comparado con otros modelos bifásicos es el relativo pequeño número de parámetros. Sin embargo, el segundo miembro de la ecuación de velocidad incluye el tiempo y así la velocidad de degradación depende del tiempo.

En algunos casos, la cinética de degradación de los pesticidas puede transcurrir también de forma que la concentración de compuesto se mantiene virtualmente constante durante un período de tiempo al inicio de la degradación y posteriormente se produce un descenso de la concentración del pesticida que puede describirse por un modelo monofásico o bifásico. La fase inicial se

denomina fase *lag* o de latencia y el tiempo de vida media del pesticida sería la suma de esta fase inicial con el valor de DT_{50} calculado para la segunda fase.

1.3.3. Estudio de la lixiviación de pesticidas en suelos

El estudio de movilidad de pesticidas en suelos, una vez aplicados, puede llevarse a cabo mediante la medida de la concentración del compuesto en el flujo de agua recogida en lisímetros instalados en el campo tras un proceso de irrigación o un evento de lluvia. La otra opción es trabajar con columnas de suelo, ya sean empaquetadas en el laboratorio o naturales (sin alterar) si se toman directamente en el campo y someterlas a un flujo continuo o discontinuo de agua o solución acuosa de $CaCl_2$ 0.01M tras la aplicación del pesticida en estudio, determinando posteriormente la concentración del pesticida lixiviado por el extremo inferior de las mismas. Las columnas de suelo sin alterar tomadas directamente en el campo son más representativas de lo que realmente sucede en condiciones de campo, ya que éstas mantienen su estructura natural incluidos los posibles macroporos existentes que condicionan en gran medida el tiempo de elución del pesticida en estudio (Flury y col., 1995).

La determinación cuantitativa del pesticida que se mueve hasta una determinada profundidad o que lixivia por el extremo inferior de las columnas con respecto a la cantidad aplicada inicialmente es el principal parámetro que se cuantifica, y habitualmente se representa gráficamente mediante lo que se denominan curvas de lixiviación (% pesticida lixiviado vs volumen de eluyente recogido).

Otro parámetro no menos importante que se determina en los estudios de lixiviación es el factor de retardo del pesticida (R_f). Este parámetro se determina como indicador del desplazamiento o variación del pico máximo de elución del pesticida observado en las curvas de lixiviación con respecto al que presenta un ión trazador que se suele adicionar con el pesticida en estudio y que describe el movimiento del agua en el suelo y no presenta ningún tipo de retención ni degradación en el mismo. El factor de retardo teórico se calcula, siempre que sea lineal la isoterma de adsorción del pesticida por el suelo, de acuerdo con la siguiente expresión (Vincent y col., 2007):

$$R_f = 1 + \frac{K_f \rho}{\theta}$$

donde R_f es el factor de retardo, ρ es la densidad del suelo ($g\ cm^{-3}$), θ es el contenido volumétrico de agua y K_f es la constante de adsorción del pesticida en estudio por el suelo donde se lleva a cabo la experiencia.

Modelización de la lixiviación de pesticidas en suelos

Los estudios de campo proporcionan información fiable sobre el destino y movilidad de los pesticidas aunque implica tener que realizar el trabajo en un lugar específico, empleando generalmente mucho tiempo y dinero. Desde este punto de vista, los modelos biofísicos son eficientes herramientas ampliamente empleadas en la predicción del destino medioambiental de pesticidas, integrando diferentes condiciones medioambientales e hidrológicas, propiedades químicas de los pesticidas y prácticas de aplicación (Mamy y col., 2008). Este hecho, junto a la cada vez más numerosa cantidad de información existente sobre el comportamiento de los pesticidas en el medioambiente en general y en el suelo en particular, ha llevado a la necesidad de crear modelos matemáticos para la simulación de este comportamiento mediante programas informáticos.

Existen distintos modelos matemáticos (MACRO (Jarvis, 1991), LEACHP (Hutson y Wagenet, 1992), GLEAMS (Knisel, 1993), PRZM-3 (Carsel y col., 1998), HYDRUS-1D (Šimůnek y col., 2008), etc.) que se han aplicado a muchos pesticidas para simular el transporte de los mismos en el suelo bajo condiciones espaciales y temporales limitadas, cada uno de ellos con sus ventajas y limitaciones.

El **modelo PRZM (Pesticide Root Zone Model)** (Carsel y col., 1998) ha sido muy utilizado en un amplio número de estudios donde ha proporcionado resultados fiables (Russell y Jones, 2002; Jackson, 2003; Mamy y col., 2008). Además, es uno de los modelos utilizados en muchos países (Europa, EE.UU.) en la evaluación del riesgo medioambiental de nuevos pesticidas previo a su registro. En la bibliografía existen pocos trabajos de modelización del transporte de fungicidas realizados con el PRZM aunque sí es posible encontrar más referencias sobre la modelización de movilidad de herbicidas con este modelo. Una descripción detallada del PRZM-3 fue dada por Carsel y col. (1998), aunque brevemente, el PRZM se puede definir como un modelo unidimensional (vertical), dinámico y compartimental utilizado para simular el flujo de agua y el movimiento de compuestos químicos dentro de la zona no saturada del suelo que se encuentra inmediatamente por debajo de la raíz de la planta. La simulación del movimiento del flujo de agua se basa en la percolación del agua de la capa superior del suelo a la inferior cuando se excede su capacidad de campo. El transporte de los compuestos químicos a lo largo del perfil del suelo se simula por la ecuación de advección-dispersión que engloba a los procesos de adsorción, degradación, volatilización, asimilación por las plantas, lixiviación, escorrentía, erosión y lavado foliar; y la dispersión y difusión en la fase líquida y gaseosa se describe por la ley de Fick. Es importante destacar la capacidad que presenta el PRZM-3 para simular la concentración de pesticida a lo largo del perfil de un suelo donde varían las características del suelo con la profundidad, y además es capaz de simular hasta tres compuestos químicos distintos o un compuesto y dos metabolitos de modo simultáneo (Chang y col., 2008).

1.4. RESIDUOS ORGÁNICOS

1.4.1. Utilización de residuos orgánicos como enmiendas en agricultura

La Legislación española, mediante la Ley 10/1998 de 21 de abril de residuos, define residuo como "cualquier sustancia u objeto perteneciente a alguna de las categorías que figuran en el anexo de esta Ley, del cual su poseedor se desprenda o del que tenga la intención u obligación de desprenderse". Atendiendo a su origen, los residuos se pueden clasificar en: A) **Residuos orgánicos**: se pueden identificar como aquéllos de origen animal y vegetal (urbanos, agrícolas, agroindustriales y ganaderos), y suponen aproximadamente un 80% del total de residuos generados en países desarrollados, y B) **Residuos inorgánicos**: bolsas, envases, vidrio, papel, metales, aparatos eléctricos, productos de cerámica, etc. (20%).

La producción de residuos orgánicos es tan elevada que es de vital importancia realizar una gestión adecuada de los mismos para que no causen problemas medioambientales ni de salud en las personas. Lo que una buena gestión de residuos persigue es no perder el valor económico y la utilidad que pueden tener muchos de ellos y usarlos como materiales útiles en vez de desecharlos. Por ello, es necesario la reutilización, el reciclado y la valorización de los residuos generados. Este aprovechamiento de toda clase de residuos orgánicos es en la actualidad una preocupación constante en los países desarrollados, ya que contribuye a resolver el problema ambiental que provoca su acumulación y además, desde el punto de vista económico, intenta rentabilizar los recursos, que en la mayoría de los países son limitados en mayor o menor medida (Cameron y col., 1997).

En España, según el artículo 5 del Real Decreto 1481/2001 de 27 de diciembre por el que se regula la eliminación de residuos mediante depósito en vertedero, la Administración General del Estado y las Comunidades Autónomas deben elaborar un programa conjunto de actuaciones para reducir los residuos orgánicos destinados a los vertederos mediante reciclaje, compostaje y valorización para evitar los impactos negativos que provoca en el medio ambiente su vertido (PNIR 2008-2015, Anexo 14). Entre los planes de acción para la gestión de los residuos orgánicos se contempla la valorización de la materia orgánica de los mismos mediante su uso como enmienda orgánica directamente en los suelos o después de un proceso de compostaje. Teniendo en cuenta que en España, en general, los suelos tienen un contenido bajo o muy bajo en materia orgánica y dado que esto redundará inexorablemente en una menor fertilidad de los mismos y, por tanto, en una mayor predisposición hacia fenómenos de degradación y desertización en ellos, el posible aprovechamiento de residuos orgánicos biodegradables tiene un gran interés.

Entre los residuos orgánicos potencialmente aprovechables en agricultura como enmienda y fertilizante se encuentran los **residuos urbanos** tales como los lodos de depuradora, los **residuos derivados de la producción agrícola y de la industria agroalimentaria**. Estos

últimos residuos incluyen compuestos orgánicos de distinta naturaleza originados en los sistemas agrícolas o forestales, tales como restos de cosechas, estiércol animal, purines o materiales vegetales procedentes de podas o de industrias agroalimentarias. Dentro de este grupo de residuos cabe señalar el interés actual de los residuos generados en la producción del vino (raspón, orujo, lías, vinaza y aguas residuales), aceite (alperujo) y, en los últimos años, los residuos generados en el cultivo del champiñón y setas comestibles (sustrato postcultivo de hongos), especialmente en algunas comunidades autónomas de España.

1.4.2. Residuos postcultivo de hongos

El 70% de la producción mundial de hongos engloba a tres grupos: *Agaricus bisporus* (champiñón), *Pleurotus* spp. (seta) y *Lentinula edodes* (seta Shiitake). El 30% restante de hongos engloba al menos una docena de especies.

China representó, en 2009, el 71.6% de la producción mundial de hongos (6.54 millones de toneladas), seguido de Europa con un 16% y América del Norte con un 6.8% (EE.UU. 5.6%). España es el tercer país productor europeo de **hongos comestibles**, con una producción aproximada de 136000 toneladas/año precedido de Holanda (235000 t/año) y Polonia (176569 t/año), y seguido de Francia (117934 t/año) e Italia (105000 t/año) (FAOSTAT, 2009). Su producción está repartida entre dos zonas: La Rioja y la comarca de la Manchuela, en Castilla-La Mancha. Existen otros núcleos de producción diseminados por diferentes regiones españolas, pero únicamente representan un 2% de la producción total española. La Rioja es la primera comunidad autónoma de España productora de champiñón, alcanzando el 55 % de la producción nacional y el 3% de la producción mundial (Marín-Benito y col., 2008).

En la producción de todas las especies de hongos quedan **millones de toneladas de sustrato "gastado"** que se acumulan sobre las cantidades almacenadas en años anteriores. Por cada tonelada de hongos producida, se genera al menos una cantidad equivalente de materiales residuales (peso en seco) (Chiu y col., 2000). En el año 2007, se generaron sólo en La Rioja 325000 t totales de SMS, de las cuales el 82% correspondió a *Agaricus bisporus*, el 15% a *Pleurotus* spp. y el 3% a *Lentinula edodes* o Shiitake (Martín y col., 2009). Mientras, en la región de La Manchuela (Castilla-La Mancha) se generaron 200000 t totales de SMS en el año 2002 (Masaguer y col., 2002). Por ello, la valorización de este material residual presenta un gran interés.

Los residuos postcultivo de los hongos están compuestos por los materiales del compost inicial utilizado para la producción de los hongos, con mayor o menor grado de evolución en función del proceso de alteración y/o compostaje posterior a que sean sometidos (Chefetz y col., 2000). En función de este proceso sus características como enmendante pueden modificarse (Stewart y col., 1998a,b). Los composts iniciales están compuestos por materiales naturales

procedentes de la agricultura (paja de trigo u otros cereales), la explotación forestal (serrín de madera, troncos de árboles), la crianza animal (estiércol de caballo, de oveja o de gallina) y de las industrias manufactureras (carbohidratos, yeso).

1.4.3. Interés del estudio del comportamiento de fungicidas en suelos de viñedo enmendados con residuos postcultivo de hongos

Actualmente, los suelos de cultivo de algunas zonas de la Rioja están mostrando problemas de empobrecimiento en materia orgánica; este hecho tiene graves consecuencias en las producciones de los cultivos, además de implicar una degeneración o agotamiento de los suelos si no se actúa sobre ellos. Especial interés tiene el empobrecimiento de los suelos dedicados al cultivo del viñedo por la repercusión económica que tendría para la zona. Estos suelos representan el 34% del área total cultivada (157781 ha) de la región (www.larioja.org) y el cultivo de viñedo proporciona una elevada actividad económica en la región debido a la gran cantidad de vino que permite elaborar (284 millones de litros en 2010) (www.riojawine.com). Si se tiene en cuenta que las fuentes de materia orgánica tradicionales como turbas o estiércoles son cada vez más escasas y costosas y no todas apropiadas para estos fines, el posible aprovechamiento de los residuos postcultivo de hongos como fuente de materia orgánica tiene un gran interés.

Aunque en algunas partes del mundo estos residuos son utilizados actualmente como biocombustible, en alimentación animal o en biorremediación de suelos, el mayor porcentaje de **su utilización es como enmienda orgánica** para cultivos de invernadero, cultivos en campo abierto o mejora de suelos en general (West y col., 1995; Martín y col., 2009).

Sin embargo, la aportación de materia orgánica sólida y líquida derivada de la aplicación de estos residuos orgánicos al suelo puede modificar el comportamiento de los fungicidas aplicados a los viñedos, con la consiguiente implicación de su permanencia en el suelo y/o su lavado a las aguas subterráneas, lo que exige la realización de una serie de estudios previos a su utilización. En la bibliografía española no existen trabajos referentes a estudios sobre la influencia de los residuos postcultivo de hongos en el comportamiento de fungicidas en suelos. En algunos trabajos existentes en la bibliografía mundial se ha estudiado la influencia de estos residuos en la degradación y/o mineralización de compuestos orgánicos tales como benceno (Semple y col, 1998) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) (Eggen, 1999; Reid y col, 2002; Sasek y col, 2003). Otros trabajos han estudiado su capacidad de eliminar contaminantes orgánicos como pentaclorofenol en sistemas acuosos (Law y col, 2003) y, en algún caso, su utilización como adsorbente ha sido estudiada para eliminar algunos pesticidas (carbamatos) desde aguas de lavado de utensilios utilizados para el manejo de estos compuestos (Kuo y Regan, 1999).

Los fungicidas son aplicados en grandes cantidades en los cultivos del viñedo, de tal modo que en el año 2008 representaron el 52% (7.19 kg ha⁻¹) del total de los pesticidas aplicados en La

Rioja (www.marm.es) como estrategia de prevención y/o curación frente a las enfermedades producidas por hongos, ya que el peso económico que suponen los viñedos en la región es muy importante. En general, el uso intensivo de fungicidas en viñedos es en la actualidad de interés público debido a la presencia de residuos de pesticidas en aguas y vinos de consumo humano (Jacobson y col., 2005).

1.5. INFLUENCIA DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS APLICADOS AL SUELO EN EL COMPORTAMIENTO DE PESTICIDAS

La aplicación de los residuos orgánicos al suelo conlleva una aportación al mismo de materia orgánica que mejora la calidad de los suelos como se ha indicado anteriormente. Sin embargo, esta aportación de materia orgánica exógena (sólida y líquida) de distinta naturaleza puede influir en otras prácticas agrícolas, como es la aplicación de pesticidas, que hay que considerar con especial interés cuando se realizan simultáneamente en la agricultura. Recientemente, ha aumentado el interés sobre los efectos de las enmiendas orgánicas en el comportamiento de los pesticidas en suelos y en la posible contaminación de las aguas subterráneas por estos compuestos (Briceño y col., 2007). Esto ha puesto de manifiesto que las enmiendas pueden modificar de un modo significativo este comportamiento (Dolaptsoglou y col., 2007; Majumdar y Singh, 2007; Rodríguez-Cruz y col., 2011b) ya que, como es sabido, los procesos de adsorción, movilidad y degradación de los pesticidas en el suelo dependen en gran medida del contenido de materia orgánica del suelo, especialmente cuando los pesticidas agrícolas utilizados son compuestos orgánicos no-iónicos, hidrofóbicos, con solubilidad baja o muy baja en agua (Cheng, 1990; Huang y col., 1995). La adsorción de estos compuestos está relacionada con el contenido en materia orgánica sólida del suelo, mientras que la movilidad de estos compuestos está relacionada con el contenido en materia orgánica disuelta (Kozak, 1996).

Algunos estudios existentes en la bibliografía llevados a cabo en los últimos años, indican un incremento en la adsorción de herbicidas triazínicos (terbutilazina, prometrina, simazina y cianazina) por un suelo calcáreo después de la adición al mismo del residuo procedente de la producción de aceite de oliva o alperujo como enmienda (Delgado-Moreno y col., 2007a). El aumento de adsorción fue mayor para los compuestos más hidrofóbicos (terbutilazina y prometrina) que para los compuestos más polares (simazina y cianazina). La adición del mismo residuo orgánico en tres suelos agrícolas del sur de España dio lugar a un aumento en la adsorción y a una disminución de la desorción, disipación y lixiviación de los fungicidas metalaxil y triciclazol (Fernandes y col., 2006), y diurón (Cox y col., 2007). Sin embargo, también se observó un descenso de la adsorción de estos pesticidas en presencia de la enmienda comercial fertiormont líquido debido a la competición entre la materia orgánica disuelta de la enmienda orgánica y las

moléculas de fungicida o herbicida por los lugares de adsorción, o un incremento en la lixiviación de diurón como consecuencia de la formación de complejos estables con el carbono orgánico disuelto. En este mismo sentido, Briceño y col. (2008) también observaron que la aplicación de estiércol líquido a un suelo agrícola en una dosis alta (300000 L ha^{-1}) podía incrementar el potencial de lixiviación de la atrazina, ya que la constante de adsorción (K_f) disminuyó en el suelo enmendado.

La adsorción y/o movilidad de los fungicidas penconazol y metalaxil ha sido estudiada en suelos modificados con vinazas líquidas y sólidas (Andrades y col., 2004), con organo arcillas (Rodríguez-Cruz y col., 2007a; Rodríguez-Cruz y col., 2008a), con maderas de pino y roble (Rodríguez-Cruz y col., 2007b; Rodríguez-Cruz y col., 2008b) o en diferentes sustratos orgánicos (estiércol, paja, serrín, compost verde, turba, etc.) (de Wilde y col., 2008) con el fin de conocer la posible utilización de estos materiales para inmovilizar estos fungicidas en suelos y evitar la contaminación de aguas superficiales y subterráneas, especialmente en zonas propicias a contaminaciones puntuales.

Fernández-Bayo y col. (2007) determinaron también un incremento importante de la adsorción del insecticida imidacloprid por un suelo arenoso y otro limo-arcilloso después de la adición de residuos de producción del vino vermicompostados debido principalmente a la fracción lignina del residuo orgánico. El efecto más pronunciado se presentó en el suelo arcilloso donde la adición de un 5% y un 10% de vermicompost supusieron un incremento de los valores de la constante de adsorción (K_f) de 8 y 15 veces, respectivamente.

La magnitud de la adsorción del fungicida thiram sobre un luvisol enmendado con varios residuos orgánicos (Filipe y col., 2010) siguió el orden: compost orgánico doméstico > lodos de depuradora > estiércol de granja > fertilizante mineral, que guarda relación con el contenido en carbono orgánico de las diferentes muestras de suelo. Los estudios de desorción revelaron un fenómeno de histéresis. Hiller y col. (2008) llevaron a cabo un estudio para ver la influencia de la adición de cenizas de trigo como enmienda orgánica en la movilidad del herbicida aniónico MCPA en dos suelos agrícolas de Eslovaquia. La adsorción del MCPA se vio incrementada 8 y 16 veces respecto al suelo control. Los resultados de desorción mostraron que la cantidad de herbicida resistente a la desorción se incrementó del 23% y 55 % en los suelos sin enmendar hasta el 80% en ambos suelos una vez enmendados, disminuyendo por tanto su lixiviación.

En los últimos años, Yu y col. (2010) han utilizado el *biochar* procedente de la combustión incompleta de madera como enmienda de suelos para estudiar la capacidad de inmovilización de pirimetanil y observaron un incremento progresivo del coeficiente de adsorción de los suelos enmendados con el contenido de *biochar* aportado y además comprobaron que el *biochar* con mayor área superficial y microporosidad mostró un mayor efecto sobre la reversibilidad de la adsorción del fungicida.

Estudios de lixiviación llevados a cabo por Si y col. (2006) en columnas de un suelo ácido en China enmendado con ácido húmico y turba comercial indicaron mayor cantidad del herbicida ethametsulfuron-metilo retenido a lo largo del perfil del suelo (92.4%) para la columna de suelo enmendado que para la columna de suelo control (68.4%). La adición de los materiales orgánicos dio lugar a un incremento en la adsorción del herbicida por el suelo que se atribuyó a la alta capacidad de adsorción de la materia orgánica insoluble añadida al suelo. También mediante la aplicación de residuos compostados procedentes de la destilación de la caña de azúcar en una concentración del 2.5% y 5.0% en suelos arenosos, Singh (2008) observó un significativo incremento de la persistencia de metribuzina, herbicida que se adsorbe débilmente, en el suelo y una disminución de su lixiviación desde un 93% en el suelo control a un 65% y 31% en los suelos con una dosis de enmienda del 2.5% ó 5.0%, respectivamente.

Fenoll y col. (2011) han estudiado recientemente la influencia del estiércol de oveja compostado y residuos de café utilizados como enmienda en un suelo franco arcilloso con bajo contenido en MO (0.22%) en la movilidad de varios pesticidas, entre ellos los fungicidas ciprodinil, azoxistrobin, pirimetanil y tebuconazol, llevada a cabo en columnas de suelo alterado. Observaron una considerable reducción de la movilidad tras enmendar el suelo, ya que mientras todos los pesticidas en mayor o menor grado lixiviaron a través del suelo no enmendado (12-65% del total de masa aplicada), tras la adición de las enmiendas sólo dos de los pesticidas se encontraron en los lixiviados (pirimetanil < 1% y pirimicarb = 44%) atribuyendo este descenso a un aumento de la capacidad de adsorción de los pesticidas sobre los suelos enmendados.

Un estudio sobre la disipación de simazina en un suelo alcalino arenoso mediante la adición de material bioprocesado fue llevado a cabo por Kadian y col. (2008) observando que el potencial de degradación del herbicida era de distinto orden según el tipo de enmienda añadida al suelo, pero siempre mayor que la degradación sufrida por el pesticida sobre el suelo control sin enmendar (desechos de biogás (34.14%) > compost de residuos de champiñón (29.17%) > estiércol de corral (22.07%) > control (15.28%)).

La influencia de la adición de diferentes materiales orgánicos al suelo como enmiendas en la adsorción, degradación y movilidad del fungicida azoxistrobin ha sido estudiada por diferentes autores. Ghosh y Singh (2009) observaron un incremento de adsorción (K_f) de 9.31 a 13.72 en un suelo franco arenoso tras ser enmendado al 5% con estiércol. Kodesová y col. (2010) comprobaron que existía una correlación de la K_f del azoxistrobin con el contenido en MO de los suelos. El aumento de la adsorción del fungicida limita su lixiviación tal y como observaron Larsbo y col. (2008). Spliid y col. (2006) además de su baja movilidad observaron que se concentraba en los 10 primeros centímetros de un *biobed* acorde con su elevado valor de K_{co} estimado.



MATERIALES Y MÉTODOS

EXPERIMENTALES

2. MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

2.1. MATERIALES

2.1.1. Residuos postcultivo de hongos

Se han utilizado en el estudio cinco tipos de sustratos postcultivo de hongos (SMS) como residuos orgánicos (Figura 6) suministrados por el Centro Tecnológico de Investigación del Champiñón (CTICH) y la empresa INTRAVAL del Grupo TRADEBE Medioambiente, S.L. Tres eran sustratos frescos (F) procedentes del cultivo de *Agaricus bisporus* (F-Ag), *Pleurotus spp.* (F-Pl) y *Lentinula edodes* o Shiitake (F-Sh) que provenían directamente de las instalaciones de cultivo y se utilizaron sin compostar. Otros dos residuos eran sustratos compostados (C), uno procedente del cultivo de *Agaricus bisporus* (C-Ag) y otro compuesto por una mezcla procedente de los cultivos de *Agaricus bisporus* (75%) y de *Pleurotus spp.* (25%) (C-Ic) que se encuentra comercializado en la actualidad (INTRACOMPOST SPCH-SPS) como enmienda orgánica (MARM, 2007). El compostaje de estos sustratos se lleva a cabo en condiciones aerobias con el fin de incrementar su grado de uniformidad y obtener un producto más estable. Para ello, tras su recepción desde las instalaciones de cultivo, se extraen los plásticos y el gravillín, se descomponen y maduran en mesetas con volteos periódicos (Figura 7), se controla la temperatura, la humedad y el oxígeno, y posteriormente se realiza un cribado (Martín y col., 2009).

De acuerdo con la información facilitada por el CTICH, el SMS procedente de la producción de *Agaricus* está compuesto de paja de trigo, estiércol de pollo, agua, nitrato amónico, urea, yeso y carbonato cálcico, el SMS procedente de la producción de *Pleurotus* está compuesto de serrín de madera y restos de plantas, y el SMS procedente de la producción de Shiitake está compuesto de paja de trigo y serrín de madera. Las características químicas y fisicoquímicas de estos sustratos (referidas a materia seca), determinadas de acuerdo con las técnicas que se describen en el apartado Métodos Experimentales, se incluyen en la Tabla 1.

2.1.2. Suelos

Se tomaron muestras del horizonte superficial (0-15 cm) de diez suelos de viñedo de diferentes zonas de la comunidad autónoma de La Rioja con características químicas y fisicoquímicas diferentes. Estos suelos se utilizaron sin enmendar, para estudiar la influencia de las propiedades de los suelos en la adsorción de ocho fungicidas de diferente estructura, y enmendados con dos residuos orgánicos seleccionados C-Ic y F-Sh (dosis 10% en peso). Las características de los suelos, determinadas de acuerdo con las técnicas que se describen en el apartado Métodos Experimentales, se incluyen en la Tabla 2.

Tabla 1. Características de los residuos postcultivo de hongos (SMS) utilizados

Características	F-Ag	C-Ag	F-PI	F-Sh	C-Ic
pH	6.7	7.4	5.7	4.5	7.5
Cenizas (%)	41.7	51.9	15.9	32.5	48.3
Humedad (%)	60.8	39.6	47.6	55.3	32.5
MO (%)	58.3	48.1	84.1	67.5	51.7
CO (%)	28.4	26.4	38.3	31.2	26.7
C (%)	29.4	27.7	38.3	31.2	28.0
N (%)	2.52	2.06	0.73	1.74	2.24
H (%)	4.01	3.26	5.50	4.40	3.20
S (%)	2.03	1.06	-	1.13	1.19
O (%)	21.4	15.3	39.6	29.0	18.4
IP ^a	0.641	0.501	0.793	0.746	0.587
C/N	11.7	13.4	52.4	17.9	12.5
COD ^b (%)	3.83	1.19	6.27	10.8	1.22
AH ^c (%)	3.31	3.75	1.86	4.52	3.21
AF ^d (%)	3.24	1.33	5.41	9.21	1.32
AH/AF	1.02	2.82	0.34	0.49	2.43
Al (%)	0.17	0.63	0.26	0.26	0.58
Ca (%)	8.64	9.80	1.67	4.11	9.90
Fe (%)	0.14	0.89	0.17	0.16	0.60
K (%)	2.83	2.23	1.42	0.64	2.24
Mg (%)	0.92	1.48	0.26	0.51	0.98
Mn (%)	0.03	0.04	0.02	0.21	0.04
Na (%)	0.34	0.29	0.07	0.07	0.29
P (%)	0.87	0.85	0.09	0.14	0.87
Cd (mg kg ⁻¹)	0.23	0.49	0.21	0.14	0.32
Cr (mg kg ⁻¹)	5.63	125	1.74	3.72	89.4
Cu (mg kg ⁻¹)	59.3	29.6	4.48	5.76	38.1
Ni (mg kg ⁻¹)	119	5.73	0.98	2.42	28.4
Pb (mg kg ⁻¹)	5.48	21.7	2.28	2.78	29.6
Zn (mg kg ⁻¹)	196	197	71.3	292	180
Hg (mg kg ⁻¹)	<0.01	0.04	<0.01	<0.01	0.03

^a Índice de polaridad calculado a partir de los radios atómicos (O+N/C), ^b carbono orgánico soluble, ^c CO asimilable a ácidos húmicos o soluble en álcalis, ^d CO asimilable a ácidos fúlvicos o soluble en ácidos y álcalis



Figura 6. Sustratos postcultivo de hongos utilizados



Figura 7. Compostaje de los sustratos postcultivo de hongos

Tabla 2. Características químicas y fisicoquímicas de los suelos de viñedo

Suelo	Textura	pH	Carbonatos (%)	MO (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Mineralogía ^a
S1	Franco Arcillosa	7.8	25.43	3.36	35.4	38.1	I, K, Cl
S2	Franco Arcillo Arenosa	7.8	18.85	0.76	22.6	21.7	I, K
S3	Franco Arcillosa	7.7	10.87	1.08	20.4	37.7	I, K
S4	Arcillosa	7.5	22.30	0.53	28.9	49.9	I, K
S5	Franco Arcillo Arenosa	8.2	35.79	0.15	15.6	21.6	I, M, K
S6	Franco Arenosa	7.9	20.90	0.57	12.5	18.7	I, K, M
S7	Arcillosa	8.0	23.50	0.44	32.9	48.0	I, K, M
Al	Franco Arcillo Arenosa	7.8	11.30	1.01	14.2	21.4	I, K, M, Cl
SA	Franco Arcillo Arenosa	7.7	27.90	1.74	10.5	31.6	I, K, Cl-I
V	Franco Arcillo Arenosa	7.8	34.60	2.54	13.5	34.7	I, K, Cl-I

^a I = Ilita, K = Caolinita, M = Montmorillonita, Cl = Clorita, Cl-I = interestratificado Clorita-Ilita

2.1.3. Parcelas de experimentación

Se prepararon parcelas experimentales en tres de los suelos de viñedo incluidos en la Tabla 2 (Al, SA, y V) con una extensión total entre 2.03 y 2.74 ha. Estas parcelas se prepararon en las localidades de Aldeanueva de Ebro, Sajazarra y Viana con la colaboración de Viñedos de Aldeanueva, Bodegas CVNE, y Viña Ijalba. En la preparación de las parcelas también colaboraron el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario de La Rioja (CIDA) y el Centro Tecnológico de Investigación del Champiñón (CTICH). Una fotografía aérea de las mismas se incluye en la Figura 8.

Cabe señalar la ubicación de las parcelas en las distintas subzonas existentes en la Comunidad de La Rioja: Rioja Alta, Rioja Alavesa y Rioja Baja, que debido a sus diferentes características de altitud, topografía, tipo de suelo y condiciones climatológicas dan lugar a características vitivinícolas diferenciadas. Sajazarra se encuentra en La Rioja Alta (altitud de 500 m), zona de mayor influencia oceánica, con un clima templado de veranos suaves y dos máximos de precipitaciones en primavera y otoño. Por el contrario, Aldeanueva de Ebro (385 m de altitud) y Viana (370 m de altitud), se encuentran en la zona este y oeste de La Rioja Baja respectivamente, que posee un clima más seco y cálido, con escasas precipitaciones y menor número de días de

heladas que otras subzonas debido al predominante clima mediterráneo que presenta esta zona (García–Santa María, 2004).



Figura 8. Fotografías aéreas de las parcelas experimentales situadas en las localidades de: a) Aldeanueva de Ebro, b) Sajazarra y c) Viana



Figura 9. Aplicación del sustrato postcultivo de hongos en las parcelas

Cada una de las parcelas se dividió en tres subparcelas para realizar tres tratamientos diferentes: suelo sin enmendar y suelo enmendado con sustrato postcultivo de *Agaricus bisporus* fresco (F-Ag) o compostado (C-Ag) a la dosis agronómica de 25 t ha⁻¹. El SMS se aplicó

homogéneamente en las subparcelas (Figura 9) y posteriormente se pasó el cultivador para incorporarlo en la capa superficial del suelo (10-15 cm). El área de cada subparcela osciló entre 0.40 y 1.08 ha y en cada una de ellas se localizaron puntos para la toma de muestras de suelos y columnas de suelos sin distorsionar para los estudios de movilidad de dos fungicidas seleccionados, según se indica en el apartado correspondiente incluido en Métodos Experimentales. En la Tabla 3 se muestra la denominación de cada una de las parcelas, su área y el contenido de carbono total y soluble de los suelos de las parcelas sin enmendar y enmendadas.

Tabla 3. Características de las parcelas experimentales

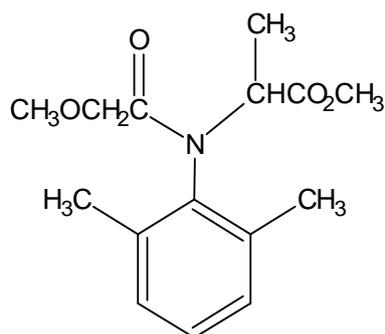
Descripción	Área (ha)	CO (%)	COD (mg g⁻¹)
Situación: Aldeanueva de Ebro			
Suelo sin enmendar (AI)	0.47	0.59	0.071
Suelo enmendado (AI+C-Ag)	1.08	0.82	0.086
Suelo enmendado (AI+F-Ag)	1.08	0.85	0.097
Situación: Sajazarra			
Suelo sin enmendar (SA)	0.83	1.01	0.066
Suelo enmendado (SA+C-Ag)	0.98	1.01	0.074
Suelo enmendado (SA+F-Ag)	0.93	1.05	0.074
Situación: Viana			
Suelo sin enmendar (V)	0.40	1.47	0.131
Suelo enmendado (V+C-Ag)	0.89	1.64	0.133
Suelo enmendado (V+F-Ag)	0.74	1.72	0.150

2.1.4. Fungicidas

Se han utilizado en el estudio ocho fungicidas pertenecientes a distintos grupos químicos: metalaxil, benalaxil, penconazol, tebuconazol, ciprodinil, pirimetanil, azoxistrobin e iprovalircarb, con estructuras y características químicas (hidrofobicidad y solubilidad en agua) diferentes y que se emplean habitualmente en viñedos en la actualidad.

Metalaxil

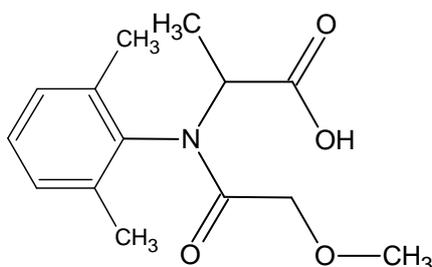
Metalaxil es el nombre común del fungicida metil N-(2,6-dimetilfenil)-N-(metoxiacetil)-DL-alaninato perteneciente a la subclase de acilalaninas de la familia de las fenilamidas. Su masa molecular (PM) es 279.3 g mol⁻¹ y presenta la siguiente fórmula química:



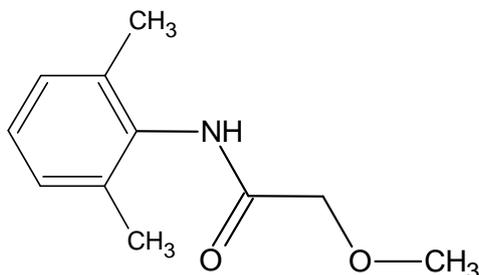
Es un sólido blanco estable hasta los 300°C. Presenta una solubilidad en agua de 8400 mg L⁻¹ (22°C) y un log K_{ow} de 1.75 (25°C). Su punto de fusión es 71.8-72.3°C y su presión de vapor 0.293 mPa (20°C) (Tomlin, 2000). Se utilizó marcado en ¹⁴C (en el anillo bencénico de la molécula) con una actividad específica de 1.37 MBq mg⁻¹ y no marcado (pureza > 97%). Este compuesto fue suministrado por Novartis Crop Protection AG (Basilea, Suiza).

El metalaxil es un fungicida sistémico que se absorbe a través de las hojas, tallos y raíces de la planta. Inhibe la síntesis de proteínas en hongos, por interferencia con la síntesis de RNA ribosómico. Presenta una acción preventiva frente a mildiu (vid, patata, fresa, tomate, etc.) y podredumbre de cuello (hortícolas, etc.) y raíz. Se formula frecuentemente con cobre, folpet, mancozeb y tiram para potenciar la acción fúngica de estos compuestos, ya que a la actividad preventiva de ellos se suma la actividad sistémica del metalaxil consiguiéndose un mayor efecto de choque.

Los metabolitos del metalaxil **CGA 62826** (metabolito 1) y **CGA 67868** (metabolito 2) cuyos nombres químicos según la IUPAC corresponden al ácido 2-[(2,6-dimetilfenil)-metoxiacetilamino]-propiónico y N-(2,6-dimetilfenil)-2-metoxiacetamida, respectivamente, se utilizaron para cuantificar los productos de degradación de metalaxil en los estudios de degradación y lixiviación de este fungicida. Ambos metabolitos son sólidos blancos cristalinos y fueron suministrados por Syngenta Crop Protection AG (Basel, Suiza). El metabolito 1, de PM 265.24 g mol⁻¹, presenta la siguiente fórmula química:

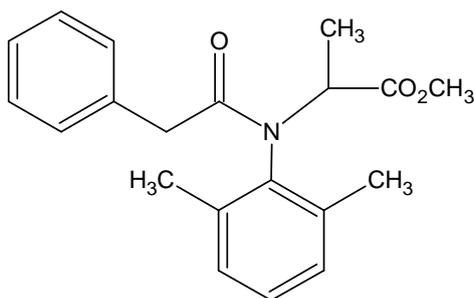


El metabolito 2, con un PM de $193.17 \text{ g mol}^{-1}$, tiene la siguiente fórmula química:



Benalaxil

Benalaxil es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como N-(fenilacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alaninato de metilo perteneciente a la subclase de acilalaninas de la familia de las fenilamidas. Su PM es 325.4 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:

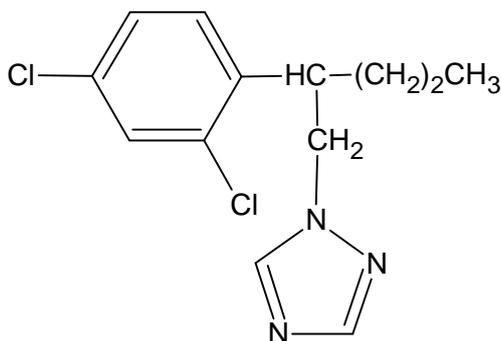


Es un sólido incoloro y casi inodoro con una solubilidad en agua de 28.6 mg L^{-1} (20°C) y un $\log K_{ow}$ de 3.54 (20°C). Su punto de fusión es $78\text{-}80^\circ\text{C}$ y su presión de vapor es de 0.66 mPa (20°C) (Tomlin, 2000). Fue suministrado por Sipcarn Inagra (Suecia) con una pureza del 96%.

El benalaxil es un fungicida sistémico con actividad preventiva y curativa. Resulta efectivo en el control del negrón de la patata y otras solanáceas, mildiu de diversas especies (vid, lechuga, cebolla y otras liliáceas, soja y girasol, productos hortícolas, patata, tomate, etc.) y podredumbre. Con frecuencia se utiliza en combinación con otros fungicidas tales como cimoxanilo, folpet, mancozeb, etc.

Penconazol

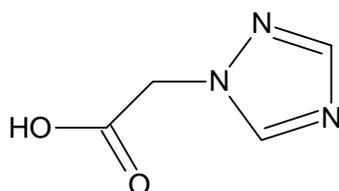
Penconazol es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como 1-[2-(2,4-diclorofenil)pentil]-1H-1,2,4-triazol perteneciente al grupo de los triazoles. Su PM es 284.2 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:



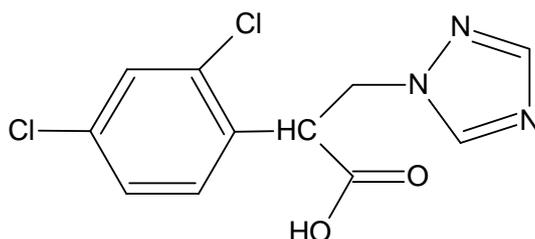
Es un sólido cristalino blanco, con una solubilidad en agua de 73 mg L^{-1} (20°C) y un $\log K_{ow}$ de 3.72 ($\text{pH } 5.72$, 25°C). Su punto de fusión es $57.6\text{-}60.3^\circ\text{C}$ y su presión de vapor 0.17 mPa (20°C), 0.37 mPa (25°C) (Tomlin, 2000). Se utilizó marcado en ^{14}C (en el anillo bencénico de la molécula) con una actividad específica de 1.02 MBq mg^{-1} (pureza $> 98.1\%$) y no marcado (pureza $> 99\%$). Este compuesto fue suministrado por Novartis Crop Protection AG (Basilea, Suiza).

El penconazol es un fungicida sistémico que se absorbe por la planta y actúa sobre el patógeno durante la germinación y penetración de las esporas de los hongos. Su acción consiste en frenar el desarrollo de hongos por interferencia con la biosíntesis del esteroles de sus membranas celulares. Se estima que penetra en la planta a través de las hojas en 30-60 minutos. Resulta eficaz en el control preventivo y curativo del oídio de las cucurbitáceas y otras plantas, del manzano y la vid; y en el moteado del manzano y el peral. Ejerce además un control estimable frente a la podredumbre negra de la vid.

Algunos posibles productos de degradación del penconazol en suelos, cuyos nombres químicos según la IUPAC corresponden al ácido 1,2,4-triazol-1-il-acético (**CGA 142856**) y al ácido 2-(2,4-diclorofenil)-3-[1,2,4]triazol-1-il-propiónico (**CGA 179944**) se trataron de identificar cualitativamente, en los estudios de degradación y lixiviación de penconazol. El metabolito CGA 142856 con $\text{PM}=127.1 \text{ g mol}^{-1}$ presenta la siguiente fórmula química:

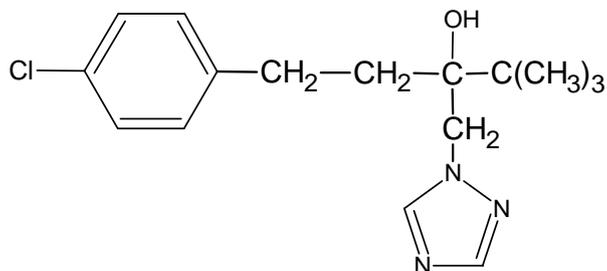


El metabolito CGA 179944 con $\text{PM}=286.1 \text{ g mol}^{-1}$ tiene la siguiente fórmula química:



Tebuconazol

Tebuconazol es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como (RS)-1-p-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)pentan-3-ol perteneciente al grupo de los triazoles. Su PM es 307.8 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:

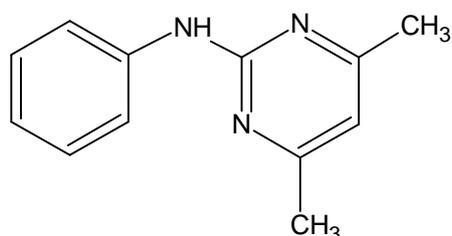


Se presenta en forma de cristales incoloros y tiene una solubilidad en agua de 36 mg L^{-1} (pH 5-9, 20°C) y un $\log K_{ow}$ de 3.7 (20°C). Su punto de fusión es 105°C y su presión de vapor $1.7 \times 10^{-3} \text{ mPa}$ (20°C) (Tomlin, 2000). Este compuesto fue suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Augsburgo, Alemania) con una pureza del 98.5%.

Este compuesto es un fungicida sistémico y con actividad fúngica preventiva y curativa. Influye sobre el proceso de biosíntesis del esteroles en los hongos patógenos. Resulta eficaz en el control preventivo y curativo de botritis en diversas especies, moniliosis o momificado de los frutos, moteado o roñas, oídio (cereales y vid) y otras enfermedades producidas por hongos distintos de los oomicetos.

Pirimetanil

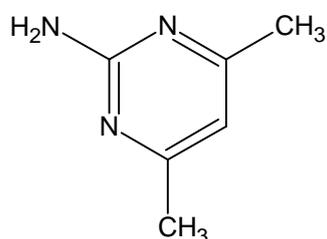
Pirimetanil es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como N-(4,6-dimetilpirimidin-2-il) anilina perteneciente al grupo de las anilino pirimidinas. Su PM es 199.3 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:



Se presenta en forma de cristales incoloros y tiene una solubilidad en agua de 121 mg L^{-1} (pH 6.1, 25°C) y un $\log K_{ow}$ de 2.84 (pH 6.1, 25°C). Su punto de fusión es 96.3°C y su presión de vapor 2.2 mPa (25°C) (Tomlin, 2000). Este compuesto fue suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Augsburgo, Alemania) con una pureza del 98.5%.

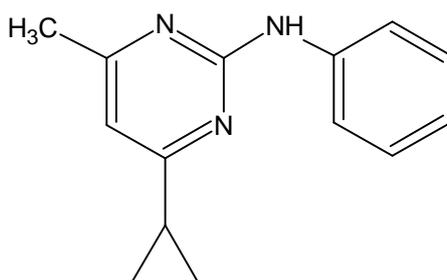
El pirimetanil presenta actividad fúngica sistémica, preventiva y curativa. Su acción se basa en impedir la extensión del tubo germinativo: actividad fungistática, por lo que se detiene su penetración en las células epidérmicas del hospedante. Su modo de acción sigue en estudio, pero se ha observado que impide la secreción de proteínas del patógeno necesarias para el proceso de infección, al tiempo que reduce los contenidos de algunas enzimas hidrolíticas que participan en la penetración y en la necrosis de los tejidos afectados. Su empleo resulta efectivo en el control de la podredumbre gris y moteado del manzano. Puede utilizarse en el control de botritis en cultivos de vid, berenjena, fresa, judía verde, lechuga, pepino, pimiento y tomate.

Un posible metabolito resultante de la degradación del pirimetanil en suelos se trató de identificar en los estudios de degradación del fungicida. El nombre químico según la IUPAC es 2-amino-4,6-dimetilpirimidina con $PM=123.16 \text{ g mol}^{-1}$, y su fórmula química es la siguiente:



Ciprodinil

Ciprodinil es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como 4-ciclopropil-6-metil-N-fenilpirimidin-2-amina perteneciente al grupo de las anilopirimidinas. Su PM es 225.3 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:



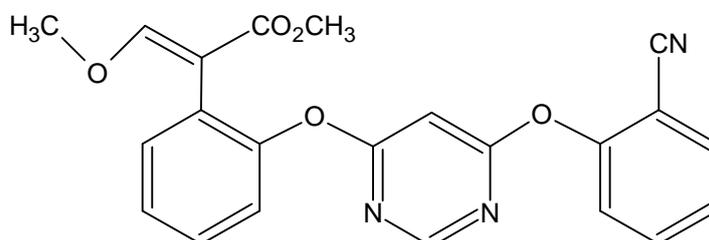
Se presenta en forma de polvo fino de color marrón y olor débil con una solubilidad en agua de 20 (pH 5.0), 13 (pH 7.0) y 15 (pH 9.0) mg L^{-1} (25°C) y un $\log K_{ow}$ de 3.9 (pH 5.0), 4 (pH 7.0) y 4 (pH 9.0) (25°C). Su punto de fusión es 75.9°C y su presión de vapor $4.7\text{-}5.1 \times 10^{-1} \text{ mPa}$ (25°C) (Tomlin, 2000). Fue suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Augsburgo, Alemania) con una pureza del 97.5%.

Este compuesto es un fungicida sistémico con actividad muy amplia sobre ascomicetos, basidiomicetos, deuteromicetos y oomicetos. Su modo de acción es mediante la alteración de la

síntesis de varios aminoácidos entre ellos la metionina. Inhibe la germinación de las esporas, el crecimiento del tubo germinativo, la penetración dentro de la planta, el crecimiento del micelio tanto externo como intracelular, e impide la esporulación. Resulta efectivo en el control de diversas botritis y moteado de los frutales de hueso y de pepita, y de la vid.

Azoxistrobin

Azoxistrobin es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como (E)-2-{2-[6-(2-cianofenoxi)pirimidin-4-iloxi]fenil}-3-metoxiacrilato de metilo perteneciente al grupo de las estrobilurinas. Su PM es 403.4 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:

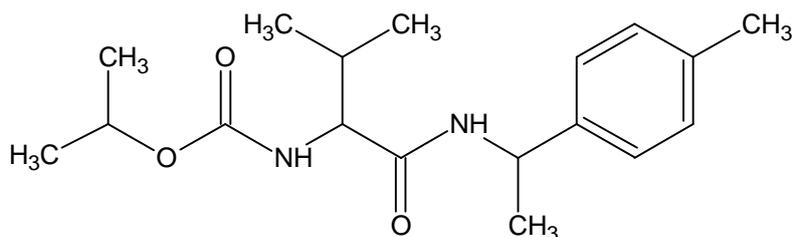


Es un sólido blanco, con una solubilidad en agua de 6 mg L^{-1} (20°C) y un $\log K_{ow}$ de 2.5 (20°C). Su punto de fusión es 116°C y su presión de vapor es de $1.1 \times 10^{-7} \text{ mPa}$ (20°C) (Tomlin, 2000). Este compuesto fue suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Augsburgo, Alemania) con una pureza del 99%.

El azoxistrobin es un fungicida sistémico con acción preventiva, curativa y antiesporulante. Inhibe la producción y germinación de las esporas y el crecimiento del micelio del hongo mediante inhibición de la respiración mitocondrial de los hongos actuando sobre la cadena de transferencia de electrones entre los citocromos b y c_1 bloqueando y frenando la síntesis de ATP. Controla cepas de hongos patógenos resistentes a los inhibidores de la 14-desmetilasa como bencimidazoles, dicarboximidias y fenilamidias. Algunas de las numerosas enfermedades contra las que se emplea son: antracnosis de la soja, de la vid y del tomate; escoriosis y peronospora de la vid; oídio de los cereales y de la vid; tizón, etc.

Iprovalicarb

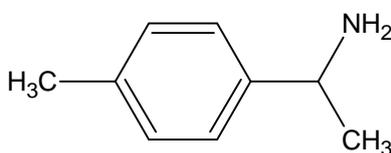
Iprovalicarb es el nombre común del fungicida conocido químicamente según la IUPAC como isopropil 2-metil-1-[(1-p-toliletil)carbamoil]propilcarbamato perteneciente al grupo de los amidocarbamatos. Su PM es 320.4 g mol^{-1} y presenta la siguiente fórmula química:



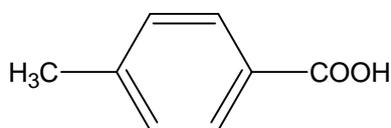
Se presenta como una mezcla de los diastereoisómeros (S,S) y (S,R) y es un polvo blanco amarillento con una solubilidad en agua de 11.0 mg L^{-1} (S,R) y 6.8 mg L^{-1} (S,S) (20°C) y un $\log K_{ow}$ de 3.2 (20°C) para ambos diastereoisómeros. Su punto de fusión es 183°C (S,R), 199°C (S,S) y $163\text{-}165^\circ\text{C}$ (mezcla). Su presión de vapor es 4.4×10^{-5} (S,R), 3.5×10^{-5} (S,S) y 7.7×10^{-5} mPa (mezcla) (20°C) (Tomlin, 2000). Este compuesto fue suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Augsburgo, Alemania) con una pureza del 97.5%.

El iprovalicarb es un fungicida sistémico que se absorbe por las raíces y las hojas y se distribuye uniformemente por toda la planta en menos de un día favorecido por la transpiración. Afecta al crecimiento de los tubos germinativos de las zoosporas y esporangios, al crecimiento del micelio y a la esporulación de los oomicetos. Aunque todavía no se conoce bien su bioquímica, parece que afecta al metabolismo de los aminoácidos. Se reducen significativamente los aminoácidos libres de las células del hongo y se altera su composición. Es muy eficaz en el control de mildiu de diversas especies (lechuga, cebolla, vid, patata, pepino, tabaco, tomate, etc.) y moho azul. Se formula con folpet y con fosetil-al + mancozeb, y ambas formulaciones pueden ser utilizadas en la vid.

Los posibles productos de degradación del iprovalicarb en suelos que se trataron de identificar cualitativamente en los estudios de degradación corresponden al 1-(4-metilfenil)etilamina como metabolito intermedio y al ácido carboxílico del iprovalicarb y al ácido tereftálico como productos de degradación finales y no específicos del iprovalicarb sino comunes con otros fungicidas. El metabolito 1-(4-metilfenil)etilamina tiene un $\text{PM}=135.21 \text{ g mol}^{-1}$ y presenta la siguiente fórmula química:



El ácido carboxílico del iprovalicarb tiene un $\text{PM}=136.21 \text{ g mol}^{-1}$ y su fórmula química es la siguiente:



El ácido tereftálico tiene un $PM=166.13 \text{ g mol}^{-1}$ y su fórmula química es la siguiente:



2.2. MÉTODOS EXPERIMENTALES

2.2.1. Determinación de las características de los residuos postcultivo de hongos y de los suelos

Residuos postcultivo de hongos

Las características de los residuos se determinaron en muestras molidas y tamizadas por tamiz de malla de luz $< 2 \text{ mm}$. El pH se midió en una suspensión de residuo en agua destilada en una proporción 1:2 (peso:volumen). La humedad se determinó por diferencia de peso tras secado de 5 g de residuo a 105°C durante 24 h. Las cenizas se determinaron por diferencia de peso tras calcinación de 5 g de residuo a 540°C durante 24 h. La determinación de la materia orgánica se realizó por diferencia de peso teniendo en cuenta el porcentaje de cenizas (MAPA, 1986).

El contenido en carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre se determinó en un analizador elemental LECO CHNS-932 (LECO Corporation, Saint Joseph, MI). El contenido en oxígeno fue calculado como la diferencia entre el 100% y la suma del porcentaje de carbono, hidrógeno, nitrógeno, azufre y cenizas de los residuos secos. El índice de polaridad de (IP) de los residuos se calculó a partir de la radios atómicos $(O+N)/C$ (Rutherford y col., 1992).

El carbono orgánico (CO) se determinó mediante el procedimiento de oxidación del dicromato (Walkley-Black). Para la determinación del COD se llevó a cabo una extracción del C de los residuos en agua desionizada utilizando una relación residuo:agua 1:100 que se agitó durante 24 h a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ en cámara termostatzada. La suspensión fue separada por centrifugación a 10000 rpm (15 min) y filtración con papel de filtro Anolia (Filter-Lab). La determinación del carbono en solución se llevó a cabo por triplicado en un Analizador de Carbono Orgánico Total Shimadzu 5050 TOC-V_{CSH/CSN} (Shimadzu, Columbia, MD) utilizando rectas de calibrado de disoluciones patrón de ftalato ácido de potasio de diferentes concentraciones en el rango entre 1 y $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

La determinación del carbono asimilable a ácidos húmicos o soluble en álcalis (AH) y del carbono asimilable a ácidos fúlvicos o soluble en ácidos y álcalis (AF) se realizó siguiendo el método tradicional de Stevenson (1994). Muestras de 1 g de cada uno de los residuos ($< 0.2 \text{ mm}$)

se agitaron durante 1 h con 25 mL de una solución 0.1M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ + $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ al 7% ajustada a pH 7 con H_2SO_4 diluido. La suspensión fue posteriormente separada por centrifugación a 10000 rpm (15 min) y filtración con papel de filtro Anovia (Filter-Lab), repitiéndose dos veces el proceso de extracción. Las disoluciones filtradas unidas y ajustadas a pH 1 con H_2SO_4 diluido se decantaron durante 24 h y posteriormente se centrifugaron. La determinación de la fracción soluble en álcalis y ácidos (AF) se llevó a cabo en la solución anterior neutralizada con una disolución 0.1M NaOH, mientras que la determinación de la fracción soluble en álcalis e insoluble en ácidos (AH) se determinó en la disolución del precipitado anteriormente obtenido tras su redisolución con 0.1M NaOH y neutralización con H_2SO_4 diluido. En ambos casos, la determinación del carbono en solución se llevó a cabo como anteriormente se indicó para el COD.

La determinación de los elementos inorgánicos se realizó mediante extracción con agua regia en un microondas modelo Ethos Sel (Milestone, Shelton, CT) y posterior análisis en plasma acoplado por inducción-espectrometría de emisión óptica (ICP-OES) Varian 720-ES (Varian Instruments, Palo Alto, CA). El mercurio se determinó mediante espectrometría de absorción atómica de vapor frío en un analizador de mercurio Milestone DMA-80 (Milestone HQ, Shelton, CT).

Se obtuvieron también los diagramas de difracción de rayos X de los residuos mediante la técnica de polvo desorientado en un Difractómetro de Rayos X Philips PW 1710 (Eindhoven, Holanda) utilizando la radiación K_{α} del Cu y operando a 50 kV y 40 mA entre 3 y 60° a un tamaño de paso de 0.04° 2 θ y a una velocidad de 2.5 s paso⁻¹. La identificación de los componentes minerales se estudió a partir de la posición de sus máximos de difracción con el software PCPDFWIN.

Suelos

Las características de los suelos se determinaron por los métodos habituales de análisis de suelos en muestras tamizadas por tamiz de malla de 2 mm (MAPA, 1986). La composición granulométrica fue determinada usando el método de la pipeta de Robinson. El carbono orgánico (CO) fue determinado mediante el procedimiento de oxidación del dicromato (Walkley-Black) y multiplicando los resultados obtenidos por 1.724 para obtener el contenido en materia orgánica (MO). El pH del suelo fue medido en una suspensión suelo:agua con una relación 1:1. El carbono inorgánico (como CaCO_3) fue determinado mediante el Calcímetro de Bernard. El nitrógeno total se determinó mediante un autoanalizador Autoanalyzer 3 (Bran Luebbe) tras una digestión Kjeldhal. El COD, el AF y el AH se determinaron por el mismo procedimiento indicado para los residuos orgánicos, pero se utilizó una relación suelo:agua 1:2 para la determinación del COD y se partió de una cantidad de 5 g de suelo o suelo+residuo seco para la determinación de los AF y los AH.

La mineralogía de la fracción arcilla se determinó mediante la técnica de agregado orientado (Robert, 1975) a partir de una suspensión acuosa de la fracción arcilla del suelo (80 mg

suelo: 6 mL agua) a la que se le añadió hexametáfosfato sódico al 2% como agente dispersante. Los diagramas de difracción de rayos X se obtuvieron también en un Difractómetro de Rayos X Philips PW 1710 (Eindhoven, Holanda) como se indicó para los residuos.

2.2.2. Adsorción-desorción y mecanismo de interacción de los fungicidas con los residuos postcultivo de hongos

Isotermas de adsorción-desorción

Se obtuvieron isotermas de adsorción-desorción de los ocho fungicidas (metalaxil, benalaxil, penconazol, tebuconazol, pirimetanil, ciprodinil, azoxistrobin e iprovalicarb) por los sustratos postcultivo de hongos F-Ag, C-Ag, F-Pl y F-Sh mediante la técnica de *batch* en equilibrio. No se obtuvieron las isotermas por el sustrato compostado comercializado por INTRAVAL (C-Ic) por proceder de los cultivos de *Agaricus* y *Pleurotus* ya considerados.

Estas isotermas se obtuvieron, por duplicado, a partir del tratamiento de 100 mg de residuo seco, tamizado por malla de 2 mm de luz, con 10 mL de solución acuosa del fungicida de concentración inicial 1, 5, 10, 15 y 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Las soluciones patrón añadidas se prepararon a partir de una solución madre de fungicida de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ obtenida disolviendo el producto sólido en metanol por dilución en agua ultrapura Milli-Q (Millipore). La adición de una pequeña cantidad de metanol (<0.1% v/v) a las soluciones acuosas permitió incrementar la solubilidad en agua de algunos de los fungicidas estudiados para conseguir un rango de soluciones de concentración similar. Las suspensiones se mantuvieron en contacto durante 24 horas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara termostatizada, con agitación intermitente. Posteriormente se centrifugaron a 3000-10000 rpm durante 15-30 min y finalmente se determinó la concentración de equilibrio de los fungicidas.

Las isotermas de desorción se obtuvieron a partir de las muestras tratadas inicialmente con las soluciones de concentración 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ una vez realizada la adsorción. Para ello se extrajeron 5 mL de la solución en equilibrio y se reemplazaron por 5 mL de agua ultrapura Milli-Q (Millipore). La nueva suspensión obtenida se mantuvo en agitación intermitente durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara termostatizada. Posteriormente, se centrifugó a 3000-10000 rpm durante 15-30 min y finalmente se determinó la concentración de equilibrio del fungicida. El proceso se realizó 4 veces durante días consecutivos para la obtención de la isoterma de desorción.

Los datos de adsorción y desorción se ajustaron a la forma linealizada de la ecuación de Freundlich: $\log C_s = \log K_f + n_f \log C_e$ o $\log C_s = \log K_{fd} + n_{fd} \log C_e$, respectivamente, indicadas en la Introducción de esta Memoria.

Determinación cuantitativa de los fungicidas

La determinación cuantitativa de todos los fungicidas se realizó mediante la medida, por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia acoplada a detector de fotodiodos y masas (HPLC-DAD-MS), de la concentración de equilibrio del fungicida en las soluciones previamente filtradas con filtros GHP acrodiscs (Waters Corporation) de 0.45 μm de tamaño de poro.

El sistema cromatográfico utilizado fue un cromatógrafo Waters (Waters Assoc., Milford, MA, USA), equipado con un sistema de bombeo multisolvente modelo e2695 con inyector automático, detector de fotodiodos en cadena modelo 996 (DAD) acoplado en serie con un espectrómetro de masas Micromass ZQ (MS) equipado con una interfaz de electrospray (ESI) y un sistema de adquisición y procesamiento de datos Empower Pro de Waters Technologies. La columna utilizada fue una Symmetry C18 (Waters Assoc.) de 75 mm \times 4.6 mm d.i. y 3.5 μm de tamaño de partícula a temperatura ambiente. La fase móvil empleada fue 70% acetonitrilo de grado HPLC y 30% agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 0.1% ácido fórmico, todo ello previamente filtrado a vacío con un filtro Millex HV₄₇ (Millipore, Bedford, MA, USA) con un tamaño de poro de 0.45 μm . La velocidad de flujo de la fase móvil fue 0.4 mL min⁻¹ y el volumen de inyección 20 μL . La temperatura de la fuente y la de desolvatación utilizadas fueron 120°C y 300°C, respectivamente. El voltaje del capilar, del extractor y de las lentes se fijaron en 3.08 kV, 5 y 0.3 V, respectivamente. La longitud de onda utilizada para la medida de cada fungicida y la relación m/z del ión molecular positivo de cada uno de ellos que permitió su identificación se incluye en la Tabla 4 junto con el voltaje de cono empleado y el tiempo de retención (T_R) para cada uno de los fungicidas en estas condiciones de medida.

Tabla 4. Parámetros de análisis de los fungicidas por HPLC-DAD-MS

Fungicida	T_R (min)	m/Z	Voltaje cono (V)	λ (nm)	Rango calibración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)		LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
					MS	PDA		
Metalaxil	3.5	280.33	20	194.0	0.05-5.0	0.05-20	0.570	1.881
Benalaxil	7.4	326.25	15	191.0	0.05-2.5	0.05-20	1.902	6.277
Penconazol	6.0	284.18	20	201.7	0.05-2.5	0.05-20	0.780	2.574
Tebuconazol	5.0	308.25	20	194.0	0.05-2.5	0.05-20	0.657	2.168
Pirimetanil	4.5	200.18	20	268.0	0.05-2.0	0.05-20	0.540	1.782
Ciprodinil	5.5	226.22	20	268.0	0.05-2.0	0.05-10	0.144	0.476
Azoxistrobin	4.5	404.17	15	198.0	0.05-2.0	0.05-5.0	0.097	0.319
Iprovalicarb	4.5	321.30	10	193.0	0.125-2.0	0.125-5.0	0.689	2.274

El análisis cuantitativo se realizó a partir del área bajo el pico de cada compuesto obtenido en modo SIM. Las rectas de calibrado son determinadas automáticamente por el aparato considerando las áreas de los picos eluidos correspondientes a los patrones de diferentes concentraciones. Estas rectas de calibrado se realizaron en soluciones de los extractos adsorbentes para evitar el posible efecto matriz. El rango de concentraciones utilizado para cada fungicida y los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de cada uno de ellos se incluyen en la Tabla 4.

Mecanismo de interacción de los fungicidas con los residuos orgánicos

El mecanismo de interacción de los fungicidas con los residuos se estudió mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR). Se pusieron en contacto 50 mg de los residuos secos (< 1 mm) con 1 mL de solución de 50 g L⁻¹ (5%) de concentración del correspondiente fungicida en dicloroetano durante 10 días. Una vez transcurrido este período de tiempo se centrifugaron las suspensiones y las muestras de residuos con el fungicida adsorbido se secaron a temperatura ambiente después de retirar el sobrenadante. Para la medida de las muestras en el espectrómetro se obtuvieron pastillas de KBr presionando a 8000 kg cm⁻² de presión una mezcla uniformemente preparada con 1 mg de muestra finamente dividida y 300 mg de polvo de KBr desecado para comprimir y evacuar el aire que pueda quedar ocluido en la mezcla. El espectro FTIR de los residuos sin tratar y tratados con los fungicidas se registraron mediante un espectrómetro FTIR Midac M Series (Midac Corporation, California, USA). Todos los espectros FTIR se midieron en el rango 4000-600 cm⁻¹ por la co-adición de 64 barridos, con una resolución de 4 cm⁻¹. El tratamiento de los espectros se llevó a cabo mediante el paquete de programas GRAMS/32-AI (ThermoGalactic, Woburn, USA) utilizando la técnica de substracción de espectros para evaluar las modificaciones de las bandas de absorción del fungicida adsorbido.

2.2.3. Adsorción de los fungicidas por suelos no enmendados y enmendados con los residuos postcultivo de hongos

Preparación de los suelos enmendados

Los suelos de viñedo incluidos en la Tabla 2 (< 2 mm) se enmendaron con dos de los residuos orgánicos incluidos en la Tabla 1 (< 2 mm), un residuo compostado (C-Ic) y un residuo sin compostar (F-Sh). Previamente a la enmienda se determinó la humedad inicial de los suelos y de los residuos orgánicos seleccionados para adicionar la cantidad de residuo correspondiente a una dosis del 10% equivalente aproximadamente a 200 t ha⁻¹ (cinco veces la dosis agronómica recomendada). Tras la enmienda, se determinó la capacidad de campo de los suelos enmendados para la preparación y mantenimiento posterior de los mismos a una humedad correspondiente al

40% de su capacidad de campo. Las muestras de suelo+residuo se mantuvieron 24 h en contacto para su estabilización antes de llevar a cabo la adsorción de los fungicidas por los suelos.

Adsorción de los fungicidas por los suelos

Se llevó a cabo la adsorción de los fungicidas por los diez suelos de viñedo seleccionados sin enmendar y enmendados. Se determinó, por duplicado, la cantidad adsorbida por los suelos utilizando 5 g de suelo y 10 mL de solución de cada uno de los fungicidas a una concentración de 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Los fungicidas metalaxil y penconazol se utilizaron marcados en ^{14}C y la actividad de las disoluciones de ^{14}C -metalaxil y ^{14}C -penconazol utilizadas fue aproximadamente 100 Bq mL^{-1} .

Las suspensiones se mantuvieron en contacto durante 24 horas a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara termostatazada con agitación intermitente. Posteriormente se centrifugaron a 3000-10000 rpm durante 15-30 min y finalmente, se determinó la concentración de equilibrio de los fungicidas. La cantidad de fungicida adsorbido se determinó como la diferencia entre la cantidad inicialmente presente en la solución y la determinada en la solución de equilibrio.

Se calculó el coeficiente de distribución K_d de los fungicidas a partir de la relación entre la cantidad adsorbida (C_s) y la concentración en equilibrio (C_e) para cada uno de los suelos sin enmendar y enmendados como parámetro característico de la adsorción de los fungicidas por los suelos. Este parámetro se relacionó con las características de los suelos con el fin de establecer aquellas que influyen de forma significativa en el proceso de adsorción de los fungicidas por los suelos.

Determinación cuantitativa de los fungicidas

La determinación cuantitativa de la concentración de equilibrio en solución de los fungicidas se realizó por HPLC-DAD-MS siguiendo el mismo procedimiento y utilizando el sistema cromatográfico y columna descritos anteriormente, y la determinación cuantitativa del ^{14}C -metalaxil y ^{14}C -penconazol se realizó mediante la medida de la actividad del ^{14}C de las soluciones en un contador de centelleo líquido Beckman Coulter TM LS 6500 (Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA).

Para la medida de las soluciones marcadas en ^{14}C se prepararon viales por duplicado tomando 1 mL de cada solución de equilibrio y añadiendo 4 mL de líquido de centelleo (Ecoscint TMA, National Diagnostics). La actividad de las soluciones se determinó a partir de las desintegraciones por minuto (dpm) registradas después de 10 min de medida. Siempre se preparó un blanco por duplicado para cada suelo (con agua) para medir las dpm correspondientes al fondo y corregir posibles interferencias en la medida del compuesto orgánico debido a los extractos

solubles de los suelos. Las concentraciones de equilibrio del pesticida se determinaron a partir de la relación dpm/concentración de cada uno de los patrones de la forma siguiente:

$$\frac{dpm_{inicial}}{C_{inicial}} = \frac{dpm_{equilibrio}}{C_{equilibrio}}$$

2.2.4. Adsorción-desorción de fungicidas seleccionados por suelos enmendados con los residuos postcultivo de hongos: Influencia de la dosis de enmienda y del tiempo de incubación suelo-residuo

Incubación de los suelos enmendados

El suelo Al situado en Aldeanueva de Ebro (La Rioja) se enmendó con el residuo comercial compostado C-Ic y el residuo sin compostar F-Sh a dos dosis diferentes, 2% y 10% en peso, equivalentes a 40 t ha⁻¹ (dosis agronómica recomendada) y 200 t ha⁻¹ (cinco veces la dosis agronómica recomendada) como se ha indicado en el Apartado 2.2.3. Los suelos enmendados se colocaron en recipientes de polipropileno individualizados de tamaño adecuado (uno para cada tratamiento y tiempo de incubación) y se removió la mezcla para homogeneizarla completamente. Finalmente, se determinó la humedad y se añadió a cada muestra el agua desionizada necesaria para mantener la humedad al 40% de su capacidad de campo. Los recipientes que contenían las muestras (~ 500 g) se taparon con una tapadera perforada para mantener condiciones aerobias durante todo el período de tratamiento de los suelos con los residuos y se incubaron en la oscuridad a 20 ± 2°C en cámara termostaticada durante 0 meses (T0), 6 meses (T6) y 12 meses (T12) (Figura 10). Periódicamente se controló la humedad inicial de las muestras y se añadió el agua desionizada necesaria para corregir las pérdidas de agua sufridas por evaporación.

Isotermas de adsorción-desorción

Se obtuvieron las isotermas de adsorción-desorción de los fungicidas metalaxil, penconazol, pirimetanil e iprovalicarb por el suelo seleccionado (Al) sin enmendar y enmendado después de 0 meses (T0), 6 meses (T6) y 12 meses (T12) de tratamiento de los residuos con el suelo mediante la técnica de *batch* en el equilibrio. La relación suelo:solución fue 1:2 y la concentración inicial de las soluciones acuosas patrón de fungicida fue 1, 5, 10, 15, 20 y 25 µg mL⁻¹ para metalaxil, penconazol y pirimetanil, y 0.5, 1, 2, 3, 4 y 5 µg mL⁻¹ para iprovalicarb. Estas soluciones patrón se prepararon teniendo en cuenta la solubilidad en agua de los fungicidas por dilución en agua ultrapura Milli-Q (Millipore) a partir de una solución madre de fungicida de 1000 µg mL⁻¹ obtenida disolviendo el producto sólido en metanol. Una vez llevadas a cabo las isotermas de adsorción se utilizaron las muestras tratadas inicialmente con las soluciones de concentración

25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de metalaxil, penconazol y pirimetanil, y de 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de iprovalicarb para la obtención de sus correspondientes isothermas de desorción. El procedimiento seguido en ambos procesos fue similar al descrito anteriormente en los estudios de adsorción-desorción de los fungicidas por los sustratos (Apartado 2.2.2.).



Figura 10. Muestras de los suelos enmendados en incubación

Determinación cuantitativa de los fungicidas

Los fungicidas metalaxil y penconazol se utilizaron marcados en ^{14}C y su determinación cuantitativa se realizó mediante la medida de la actividad del ^{14}C de las soluciones en un contador de centelleo líquido siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente.

La determinación cuantitativa de la concentración de equilibrio en solución del pirimetanil y del iprovalicarb se realizó por HPLC-DAD-MS siguiendo el mismo procedimiento y utilizando el mismo sistema cromatográfico y columna descritos anteriormente. La fase móvil empleada en este caso fue 80% metanol de grado HPLC y 20% agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 0.1% ácido fórmico para el pirimetanil y 60% acetonitrilo de grado HPLC y 40% agua ultrapura con 0.1% ácido fórmico para el iprovalicarb. La velocidad de flujo de trabajo fue 0.3 mL min^{-1} y el volumen de inyección, 20 μL para ambos fungicidas. La longitud de onda utilizada para la medida de cada fungicida y la relación m/z del ión molecular positivo de cada uno de ellos que permitió su identificación, junto con otra serie de parámetros, fueron similares a los incluidos en la Tabla 4 a

excepción del tiempo de retención para cada uno de los fungicidas que en estas condiciones de medida fueron 6.0 y 7.1 min para pirimetanil e iprovalicarb, respectivamente.

2.2.5. Disipación de fungicidas en suelos sin enmendar y enmendados con los residuos postcultivo de hongos

Preparación e incubación de las muestras suelo-fungicida

Se estudió la disipación de los fungicidas iprovalicarb, pirimetanil, metalaxil y penconazol en el suelo seleccionado (A1) sin enmendar y enmendado, en condiciones de laboratorio. Para este estudio se tomó el suelo "fresco" del horizonte superficial (0-15 cm), se secó a temperatura ambiente lo suficiente para facilitar el tamizado por malla de 2 mm de luz y se determinó su capacidad de campo y su humedad inicial. Los residuos utilizados para la enmienda fueron también el C-Ic y el F-Sh previamente molidos y tamizados (< 2 mm). Posteriormente, y teniendo en cuenta la humedad del suelo y de los residuos, se enmendó el suelo al 10% en peso con los residuos en recipientes de polipropileno individualizados de tamaño adecuado (uno para cada tratamiento y fungicida) (Figura 11), se homogeneizó completamente removiendo la mezcla con una espátula estéril y se determinó la humedad y la capacidad de campo de las muestras de suelo enmendadas.



Figura 11. Muestras suelo-fungicida en el estudio de disipación

El fungicida se añadió a los suelos en un volumen de agua desionizada y esterilizada de concentración adecuada para aportar a cada muestra una dosis de compuesto de 2 mg kg^{-1} (dosis

agronómica). En el caso de los fungicidas metalaxil y penconazol se llevó a cabo un experimento paralelo utilizando los compuestos marcados en ^{14}C . Posteriormente se añadió a cada muestra el agua desionizada esterilizada necesaria para alcanzar el 40% de la capacidad de campo de los suelos y se homogeneizó la mezcla. Los recipientes que contenían las muestras (300-500 g) se cubrieron con una tapadera sin ajustar para mantener condiciones aerobias durante todo el período de estudio y se incubaron a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara termostatzada y en la oscuridad para evitar una posible degradación fotoquímica de los fungicidas.

El primer muestreo se realizó después de homogeneizada la disolución del fungicida en el suelo sin enmendar y enmendado durante 24 h. También se incubó, en matraz Erlenmeyer con tapón de algodón envuelto en gasa y cubierto con papel de aluminio para conservar la humedad, una muestra de suelo sin enmendar previamente esterilizado en autoclave a 120°C durante 1 h, y tres días consecutivos, para utilizarlo como suelo control para cada fungicida en estudio. La manipulación de las muestras estériles se realizó siempre en cabina de flujo laminar para evitar posibles contaminaciones externas del suelo.

Extracción y determinación de los fungicidas y metabolitos

La extracción de los fungicidas de los suelos para el estudio de su cinética de disipación se realizó a distintos tiempos entre 0 y 258 días después de la aplicación del fungicida. Las pérdidas de humedad de cada muestra de suelo sin enmendar y enmendado se corrigieron previamente a cada muestreo añadiendo el correspondiente volumen de agua esterilizada. Posteriormente, se tomaron 5 g de muestra de suelo, por duplicado, de cada tratamiento y se realizó la extracción de los fungicidas con 10 mL de metanol. Este disolvente orgánico se seleccionó como extractante tras realizar previamente pruebas de recuperación de los cuatro fungicidas con distintos extractantes (metanol, acetonitrilo y acetona) y comprobar que los porcentajes de recuperación con metanol eran próximos al 100% (metalaxil=101%-111%, penconazol=101%-107%, iprovalicarb=101%-107% y pirimetanil= 87%-96%). La mezcla se agitó durante 24 h a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ en cámara termostatzada con agitación intermitente, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min y finalmente se determinó la concentración de fungicida extraído.

La determinación cuantitativa de los fungicidas extraídos del suelo se llevó a cabo por HPLC-MS para metalaxil, penconazol e iprovalicarb en el sistema cromatográfico descrito anteriormente. La fase móvil empleada fue 70% metanol de grado HPLC y 30% agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 0.1% ácido fórmico para el metalaxil y 80% metanol de grado HPLC y 20% agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 0.1% ácido fórmico para penconazol e iprovalicarb. La velocidad de flujo de trabajo fue 0.3 mL min^{-1} y el volumen de inyección, 20 μL para los tres fungicidas. La relación m/z del ión molecular positivo de cada uno de los fungicidas que permitió su identificación, junto con otra serie de parámetros coinciden con los incluidos en la Tabla 4 a

excepción del tiempo de retención para cada uno de los fungicidas que en estas condiciones de medida fueron 5.4, 6.8 y 5.0 min para metalaxil, penconazol e iprovalicarb, respectivamente.

La determinación cuantitativa de pirimetanil se realizó por GC-MS. El sistema cromatográfico utilizado fue un cromatógrafo Agilent 7890A (Agilent Technologies, Madrid, España), equipado con un inyector automático Agilent serie 7683B, un detector de MS de impacto electrónico Agilent 5975C de triple eje y un sistema de adquisición y procesamiento de datos Agilent Technologies. La columna capilar utilizada fue una Agilent HP-5MS (5%-difenil 95%-dimetilsiloxano) (Agilent Technologies) de 30 m × 0.25 mm d.i. y 0.25 μm de tamaño de partícula. Se trabajó con un flujo de 1.5 mL min⁻¹ de helio como gas portador. La temperatura del inyector fue 250°C y el volumen de inyección 1 μL en modo *splitless*. El programa de temperatura del horno fue 2 min a 70°C y a partir de ahí se fue incrementando a razón de 20°C min⁻¹ hasta los 230°C, temperatura que se mantuvo durante los 10 min de medida de cada muestra. El espectro de masas de impacto electrónico se obtuvo a 70 eV. La temperatura de la fuente de iones, del cuadrupolo y de la interfase se fijó en 230°C, 150°C y 280°C, respectivamente. En estas condiciones el tiempo de retención del pirimetanil (m/z=198) fue de 6.2 min. El análisis cuantitativo se realizó a partir del área bajo el pico del compuesto obtenido en modo SIM. Las rectas de calibrado son determinadas automáticamente por el equipo considerando las áreas de los picos eluidos correspondientes a los patrones de diferentes concentraciones (0.03-1.5 μg mL⁻¹).

La determinación cuantitativa de ¹⁴C-metalaxil y ¹⁴C-penconazol extraído se llevó a cabo en contador de centelleo líquido como se ha indicado anteriormente.

Para el estudio de los posibles metabolitos formados durante el proceso de degradación de los fungicidas se evaporaron 6 mL de la solución de sobrenadante obtenida tras la centrifugación de la mezcla suelo-extrantante o suelo enmendado-extractante a 37°C en un evaporador VLM modelo EVA EC2L (VLM GmbH, Bielefeld, Alemania) con corriente de nitrógeno. Posteriormente se redisolvió en 0.75 mL de MeOH, y se filtraron a través de filtros GHP acrodiscs (Waters Corporation) de 0.45 μm de tamaño de poro antes de su análisis.

La determinación cuantitativa y/o cualitativa de los posibles metabolitos formados durante el proceso de degradación/disipación de los fungicidas y extraídos se llevó a cabo por HPLC-MS con una fase móvil de 70% metanol de grado HPLC y 30% agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 0.1% ácido fórmico y un flujo de 0.3 mL min⁻¹ en el sistema cromatográfico descrito en apartados anteriores. La relación m/z del ión molecular positivo utilizada para la identificación de los metabolitos de cada uno de los fungicidas y sus respectivos nombres se recogen en la Tabla 5.

Solamente se determinaron cuantitativamente los metabolitos generados durante la degradación del metalaxil por disponer de patrones de los mismos, mientras que los metabolitos de penconazol, pirimetanil e iprovalicarb sólo se monitorizaron cualitativamente. Los metabolitos

del metalaxil presentaron un tiempo de retención de 3.8 (m/z= 194.17) y 4.5 min (m/z= 266.24) en las condiciones de medida indicadas.

Tabla 5. Nombre químico y relación m/z de los metabolitos correspondientes a cada uno de los fungicidas monitorizados en los estudios de disipación

Fungicida	Metabolitos	m/z
Iprovalicarb	1-(4-metilfenil)etilamina	136.21
	ácido carboxílico del iprovalicarb	137.21
	ácido tereftálico	167.13
Pirimetanil	2-amino-4,6-dimetilpirimidina	124.0
Metalaxil	ácido 2-[(2,6-dimetilfenil)-metoxiacetilamino]- propiónico	266.24
	N-(2,6-dimetilfenil)-2-metoxiacetamida	194.17
Penconazol	ácido 1,2,4-triazol-1-il-acético	128.1
	ácido 2-(2,4-diclorofenil)-3-[1,2,4]triazol-1-il-propiónico	287.1

Mineralización de los fungicidas ^{14}C -metalaxil y ^{14}C -penconazol y determinación de los residuos no extraíbles enlazados al suelo

Se llevaron a cabo incubaciones simultáneas con los fungicidas marcados en ^{14}C con objeto de estudiar su cinética de mineralización y la formación de residuos enlazados no extraíbles con el tiempo y poder hacer un balance total de estos compuestos al final del proceso. Se añadió también una dosis de fungicida de 2 mg kg^{-1} con una actividad aproximada de 100 Bq g^{-1} de suelo. El $^{14}\text{CO}_2$ liberado durante la mineralización del fungicida fue atrapado en una disolución de 1 mL de NaOH 1M contenida en un vial sujeto a la tapadera del recipiente que contenía el suelo como se muestra en la Figura 12 (Reid y col., 2001). Este vial se sustituyó a cada tiempo de muestreo. La determinación cuantitativa de la mineralización de metalaxil y penconazol se realizó añadiendo 4 mL de líquido de centelleo al vial que contenía la disolución de NaOH 1M y midiendo la actividad en contador de centelleo líquido.

El ^{14}C -fungicida no extraíble y enlazado al suelo se determinó en muestras de 1 g de suelo sin enmendar y enmendado previamente secadas a 40°C y después de extraer el fungicida del suelo. Las muestras se quemaron, por triplicado, en un horno de combustión Biological Oxidizer OX500 (R.J. Harvey Instrument Corporation, Tappan, NY, USA) en corriente de oxígeno (gas de combustión) a 900°C y de nitrógeno (gas de purga) a un flujo de 350 mL min^{-1} . El $^{14}\text{CO}_2$ generado

se recogió en una mezcla de 1 mL de etanolamina y 15 mL de líquido de centelleo (Oxisolve C-400, Zinsser Analytic) y se determinó la actividad en contador de centelleo líquido.



Figura 12. Sistema para la recogida del $^{14}\text{CO}_2$ en suelos incubados

Determinación de la actividad deshidrogenasa

La determinación de la actividad deshidrogenasa como indicador de la actividad microbiana total se llevó a cabo en muestras de suelo sin enmendar y enmendado con los dos residuos, sin tratar con los fungicidas (muestras control) y después de ser tratadas. Se determinó por el método de Tabatabai (1994) a los distintos tiempos de muestreo después de la aplicación de los fungicidas en los suelos. Para ello se tomaron por duplicado 6 g de muestra de suelo o suelo-residuo de humedad conocida y se mezclaron con 0.06 g CaCO_3 , 1 mL de una disolución acuosa de cloruro 2,3,5-trifeniltretrazolium (TTC) al 3% y 2.5 mL de agua ultrapura Milli-Q (Millipore). Se mantuvo en oscuridad a 37°C y en condiciones anaerobias durante 24 h tras las cuales se extrajo el compuesto 1,3,5-trifenilformazan (TPF) generado en el proceso con tres extracciones consecutivas en metanol. Los reactivos TTC y TPF fueron suministrados por Sigma-Aldrich Química SA (España).

La determinación cuantitativa de la actividad deshidrogenasa de los suelos se llevó a cabo por espectrofotometría UV-visible. El espectrofotómetro utilizado fue un Cary 100 Conc (Varian Optical Spectroscopy Instruments) y el software utilizado para la determinación de la absorbancia fue el Cary win UV. La medida de la adsorbancia del compuesto TPF generado, de color rojo, se realizó a la longitud de onda de 485 nm.

Modelización de las curvas de disipación/degradación de fungicidas en el suelo sin enmendar y enmendado

Las curvas de disipación se ajustaron a dos modelos cinéticos utilizando la herramienta Solver de Microsoft Office Excel 2003 (FOCUS, 2006): cinética de primer orden (SFO) y cinética de

primer orden multicompartimental (FOMC) o modelo de Gustafson & Holden descritos en la Introducción de esta Memoria.

La **bondad del ajuste** del modelo cinético a la curva de disipación fue cuantificada mediante el **test chi-cuadrado (χ^2)** (FOCUS, 2006). χ^2 representa la desviación entre los valores calculado y observado relativo a la medida de error, donde C es el valor calculado, O es el valor observado y \bar{O} es la media de todos los valores observados, y *err* es el porcentaje de la medida de error.

$$\chi^2 = \sum \frac{(C - O)^2}{\left(\frac{err}{100} - \bar{O}\right)^2}$$

Para validar el modelo, los valores calculados de χ^2 tienen que ser menores o iguales a los valores tabulados ($\chi^2_{m,\alpha}$), donde m son los grados de libertad (número de medidas menos número de parámetros del modelo) y α es el grado de significación del test. En este estudio, $\alpha = 0.05$ indica que el modelo tiene un 95% de probabilidad de ser apropiado. El **porcentaje de error** al cual el test χ^2 es aceptable para un cierto grado de libertad debería de estar por debajo de 15% (para un 5% de nivel de significación). El modelo que mejor se ajusta a la curva de disipación es aquel que presenta menor valor de porcentaje de error comparado con otro modelo. La ecuación que define el **error del test χ^2** es:

$$err = 100 \times \sqrt{\frac{1}{\chi^2_{tabulado}} \times \sum \frac{(C - O)^2}{O^2}}$$

Además se calculó el **coeficiente de determinación (r^2)** para caracterizar la relación entre los valores calculados y los observados. Idealmente la representación de los valores calculados por el modelo frente a los observados debería de ser una línea recta con intersección en 0 y una pendiente de 1. El coeficiente de determinación puede ser interpretado como la fracción de la varianza de los datos observados que es explicada por el modelo y se calculó con la siguiente ecuación:

$$r^2 = \left\{ \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})(C_i - \bar{C})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})^2 \sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}} \right\}$$

donde, n es el número total de observaciones, O_i es el valor observado para la observación i (i=1, 2, ..., n), C_i es el valor calculado con el modelo seleccionado para la observación i, \bar{O} es la media de todos los valores observados y \bar{C} es la media de todos los valores calculados.

2.2.6. Movilidad de los fungicidas metalaxil y penconazol en suelos de parcelas experimentales sin enmendar y enmendados con residuos postcultivo de hongos

Se tomaron columnas de suelo sin alterar para los estudios de movilidad en los puntos seleccionados en cada una de las subparcelas como se ha indicado en el apartado Materiales-Parcelas de experimentación.

Las columnas utilizadas eran de acero inoxidable y tenían una medida de 40 cm x 9 cm d.i. y 3 mm de espesor. Se escogió este material debido a su resistencia a la humedad y a otros agentes químicos, así como por su resistencia a la deformación cuando se introduce y extrae del suelo. Uno de los extremos de la columna estaba biselado para facilitar la toma de muestra. La columna se diseñó para que sólo penetrase en el suelo unos 35 cm permitiendo utilizar los 5 cm restantes para el proceso de adición de los fungicidas, el trazador y el agua de lavado. En la Figura 13 se muestra la toma de las columnas en el suelo (Lorenzo-Martín y col., 1994). Se tomaron 4 columnas en cada una de las subparcelas. Las columnas una vez llenas de la muestra de suelo sin alterar, se taparon en el extremo superior e inferior con una tapa de aluminio.



Figura 13. Toma de muestras de columnas de suelo sin alterar

Previamente a la toma de muestras se pesaron las columnas vacías y se volvieron a pesar una vez tomada la muestra de suelo. Para determinar el volumen de poro, las columnas se introdujeron verticalmente en un recipiente con agua permitiendo que el agua ascendiera por capilaridad hasta su extremo superior. La cantidad de agua total retenida, equivalente al volumen de poro, se determinó pesando las columnas tras su saturación después de drenar durante 24 h y quedar en condiciones de humedad correspondientes a su capacidad de campo. El volumen de agua retenida por las columnas osciló en el rango 310 mL - 675 mL.

Todas las columnas, una vez saturadas, se prepararon adecuadamente para la recogida de los lixiviados colocando en su extremo inferior un papel de filtro y una malla que permitiera pasar los lixiviados sin arrastrar parte del suelo. Además se les acopló un embudo que facilitara la recogida de los lixiviados.

La dosis de metalaxil y penconazol añadida a todas las columnas fue 10 mg, de cada uno de los fungicidas, disueltos en 10 mL de una mezcla hidroalcohólica (46% metanol: 54% agua). El penconazol y el metalaxil se aplicaron juntos en cada columna con una pipeta para distribuir el volumen de manera homogénea en la superficie de la columna. Además de los fungicidas, se aplicaron 5 mL de una solución de 50 g L⁻¹ de KCl (250 mg) a cada columna como trazador.

Las columnas de suelo tomadas, una vez saturadas y tratadas con los fungicidas y el trazador, se dividieron en dos grupos constituidos cada uno por dos columnas de cada subparcela. Las columnas de un grupo se lavaron inmediatamente y las del otro grupo se mantuvieron saturadas al aire libre durante 77 días con el fin de analizar la influencia de la incubación o envejecimiento de los fungicidas en el suelo sobre su movilidad (Figura 14).



Figura 14. Columnas de suelo sin incubar e incubadas al aire libre durante 77 días

Las **columnas sin incubar**, una vez transcurridas 24 h desde la aplicación de los fungicidas y el KCl, se empezaron a lavar con 50 mL de agua por día y columna. Se lavaron hasta alcanzar un volumen de agua añadido de 1500 mL, correspondiente a 2.2-4.8 volúmenes de poro (VP) dependiendo de las características de la columna de suelo (rango 2.4-3.3 VP, 3.1-4.8 VP y 2.2-2.7 VP para los suelos AI, SA y V, respectivamente). El agua lixiviada en las columnas se recogió a diario en botellas de cristal de 125 mL, midiendo el volumen recogido. Las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4°C hasta su posterior análisis por HPLC-DAD-MS y la medida de los cloruros se llevó a cabo por cromatografía iónica.

Las **columnas incubadas** se mantuvieron saturadas de agua añadiendo pequeños aportes de agua en los casos que fue necesario y se llevó a cabo un registro de las temperaturas diurnas y nocturnas, de las precipitaciones y de la humedad relativa media durante los 77 días que duró la incubación. La temperatura osciló entre los -3.6°C de mínima del día 7 de marzo de 2008 y los 27.7°C de máxima del día 8 de mayo de 2008, con una temperatura media en este período de 10.6°C. La humedad relativa media varió entre un 46% de mínima del día 5 de abril de 2008 y un 91% de máxima del día 10 de mayo de 2008, con una media de humedad relativa media de 69.7%. La precipitación total durante este período fue de 124.6 L m⁻² (datos de la estación meteorológica de Matacán). Transcurrido este período de tiempo, se procedió al lavado de los fungicidas de las columnas.

Se lavaron con un volumen de agua de 1500 mL correspondiente a 2.2-4.8 volúmenes de poro dependiendo de las características de la columna de suelo (rango 2.2-3.6 VP, 3.9-4.8 VP y 2.5-4.8 VP para los suelos AI, SA y V, respectivamente). Se recogieron los lixiviados, se midió su volumen y se determinó la cantidad de cada fungicida presente en los mismos de igual modo que en las columnas sin incubar.

Determinación cuantitativa de penconazol, metalaxil y metabolitos del metalaxil en los lixiviados y en los extractos de los suelos

La determinación cuantitativa en los lixiviados de los dos tipos de columnas, tanto del penconazol como del metalaxil, así como de dos de los metabolitos del metalaxil, CGA 62826 (metabolito 1) y CGA 67868 (metabolito 2), se realizó mediante el mismo sistema cromatográfico HPLC-DAD-MS descrito anteriormente. La velocidad de flujo de trabajo fue 0.40 mL min⁻¹ y como fase móvil se empleó 70% acetonitrilo de grado HPLC y 30% agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 0.1% ácido fórmico. El volumen de inyección fue de 20 µL.

Se llevó a cabo la detección por HPLC-DAD a la longitud de onda de 194.0 nm para el metalaxil y sus dos metabolitos, y 201.7 nm para el penconazol (máximos de absorción en ultravioleta). La determinación de la relación m/z del ión molecular positivo de cada uno de ellos con HPLC-MS permitió confirmar la identidad de estos compuestos siendo 280.21 para el metalaxil,

266.24 para el metabolito 1, 194.17 para el metabolito 2 y 284.14 para el penconazol. Los tiempos de retención para cada uno de ellos con las condiciones de medida indicadas anteriormente fueron 3.4 min para el metalaxil, 2.8 min para el metabolito 1, 2.9 min para el metabolito 2 y 5.6 min para el penconazol.

Las rectas de calibrado para el metalaxil y el penconazol se construyeron en el rango entre 0.5 y 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ y las rectas de calibrado de los metabolitos 1 y 2 en el rango 0.5 - 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Las disoluciones patrón en medio acuoso de los dos metabolitos del metalaxil se prepararon a partir de una disolución madre de los metabolitos de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ obtenida previamente disolviendo los compuestos sólidos en metanol. Estas últimas se determinaron para cuantificar los productos de degradación de metalaxil encontrados en los lixiviados y en los extractos de los suelos. En ningún caso se observó en los cromatogramas productos de degradación de penconazol.

Determinación cuantitativa del trazador KCl

El ión trazador cloruro se midió en las muestras de lixiviados recogidas a diario tras filtrarlas previamente con filtros GHP acrodiscs (Waters Corporation) de 0.45 μm de tamaño de poro. El sistema cromatográfico utilizado fue un sistema modular de cromatografía iónica Metrohm (Metrohm Ltd., Herisau, Suiza) con supresión química formado por un módulo de bombeo para el eluyente (Metrohm 709 IC Pump), una bomba peristáltica para el bombeo de las disoluciones de lavado y regeneración del supresor (Metrohm 752 Pump Unit), el centro de separación donde se encuentra la columna y el módulo supresor (Metrohm 733 IC Separation Center), y el detector de conductividad (Metrohm 732 IC Detector). El sistema de adquisición y procesamiento de datos utilizado fue el IC Metrodata 714 for Win 95. La columna utilizada fue 6.1006.520 Metrosep A Supp 5 (Metrohm), constituida por alcohol polivinílico con grupos amonio cuaternario, de 150 mm \times 4 mm d.i., de 5 μm tamaño de partícula. La fase móvil (eluyente) empleada fue una disolución en agua ultrapura Milli-Q (Millipore) con 3.2 mmol L^{-1} (84 mg L^{-1}) de Na_2CO_3 , 1.0 mmol L^{-1} (339 mg L^{-1}) de NaHCO_3 y 100 mL de acetona (un 10%, para evitar que aparezcan bacterias). Se utilizaron agua ultrapura Milli-Q (Millipore) y una disolución acuosa de ácido sulfúrico 20 mM como disoluciones de lavado y de regeneración del supresor. La velocidad de flujo de trabajo fue 0.6 mL min^{-1} y el volumen de inyección 100 μL previo llenado manual del bucle de muestras con una jeringa. Antes de llenar el bucle de muestras de la bomba peristáltica (manualmente con jeringa) se filtraron las muestras a través de filtros GHP acrodiscs (Waters Corporation) de 0.2 μm de tamaño de poro. Con estas condiciones, el tiempo de retención de los iones cloruro fue de 6.18 min.

Extracción de los fungicidas de las columnas de suelo

Una vez terminado el período de lavado de la columna y con el fin de realizar un balance de masa de los fungicidas, se extrajo el suelo de las columnas dividiéndolo en 5 tramos (0-8 cm, 8-16 cm, 16-24 cm, 24-32 cm y 32-40 cm) como se muestra en la Figura 15 (Lorenzo-Martín y col., 1994). Se dejó secar el suelo a temperatura ambiente, se desagregó manualmente, se tamizó por malla de 2 mm de luz y se pesaron las gravas para conocer la cantidad real de suelo que había en cada tramo y poder hacer posteriormente los cálculos. Con el fin de calcular la cantidad de fungicida retenido en el suelo, se tomaron 5 g de suelo de cada tramo por duplicado y se realizó una extracción añadiendo 10 mL de metanol. La mezcla se agitó durante 24 h de modo intermitente en cámara termostatazada a $20 \pm 2^\circ\text{C}$, se centrifugó y midió por HPLC-DAD-MS en las mismas condiciones descritas anteriormente para los lixiviados.



Figura 15. Extracción de los tramos de suelo de la columna

Los resultados experimentales obtenidos en el estudio de movilidad de los fungicidas penconazol y metalaxil en las columnas de suelo de viñedo sin alterar se compararon con las predicciones obtenidas mediante el modelo matemático PRZM (Pesticide Root Zone Model) versión 3.12 descrito en el apartado Introducción.

Modelización de la movilidad de penconazol y metalaxil en columnas de suelo: Modelo PRZM 3.12

Parametrización del modelo

Las características fisicoquímicas de los suelos (Tabla 2) y los parámetros necesarios para parametrizar el modelo relativos a la adsorción de penconazol y metalaxil se tomaron de Marín-

Benito y col. (2009), los valores de K_d del metabolito mayoritario del metalaxil (metabolito 1) se determinaron expresamente para el estudio de modelización para una concentración inicial de $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabla 24) y los parámetros relativos a la degradación de los tres compuestos fueron los incluidos en las Tablas 18 y 19, excepto el tiempo de vida media del metabolito 1 ($DT_{50} = 53$ días) que se tomó de la base de datos FOOTPRINT (2011). Otros parámetros como el contenido en agua a capacidad de campo (-33 kPa) y punto de marchitez del suelo (-1500 kPa) se estimaron utilizando funciones de pedotransferencia (Arrouays y col., 1993; Tessier y col., 1999) o incluso analogías con la parametrización de situaciones similares (FOCUS, 2000). Los datos climatológicos se tomaron de la estación meteorológica de Matacán, la más próxima al área donde se llevaron a cabo los experimentos.

La modelización del comportamiento del metabolito minoritario del metalaxil (metabolito 2) no se realizó debido a la ausencia de datos bibliográficos necesarios para el estudio.

Evaluación del PRZM

Para evaluar la bondad de interpretación del modelo se determinaron los siguientes índices estadísticos (Smith y col., 1996):

1. El **coeficiente de correlación lineal simple r** , el cual es una medida del grado de asociación entre la simulación y la medida, e indica si la forma de la simulación trazada es similar a los datos medidos o no:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - O_m) \times (P_i - P_m)}{\left[\sum_{i=1}^n (O_i - O_m)^2 \right]^{1/2} \left[\sum_{i=1}^n (P_i - P_m)^2 \right]^{1/2}}$$

donde O_i y P_i son los valores observados y predichos respectivamente, O_m y P_m son los valores medios observados y predichos respectivamente y n es el número de datos de muestreo. Si $r = +1$ (-1), existe una perfecta correlación positiva (negativa) entre los valores simulados y medidos; si $r = 0$, no existe correlación entre las simulaciones y las medidas.

2. La **eficiencia del modelo EF** indica si los valores simulados son próximos a los valores medidos:

$$EF = \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - O_m)^2 - \sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2}{\sum_{i=1}^n (O_i - O_m)^2}$$

La correspondencia perfecta viene dada por $EF = 1$.

3. La **raíz del error cuadrado *RMSE*** proporciona un término porcentual para la diferencia total entre los valores predichos y observados:

$$RMSE = \frac{100}{O_m} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (P_i - O_i)^2}{n}}$$

El límite inferior para el *RMSE* es 0, en cuyo caso no hay diferencia entre los valores los valores medidos y simulados.

4. El **coeficiente de masa residual *CRM*** da una indicación de la consistencia de los errores en la distribución de todos los valores simulados a través de todas las medidas sin tener en cuenta el orden de las medidas:

$$CRM = \frac{\sum_{i=1}^n O_i - \sum_{i=1}^n P_i}{\sum_{i=1}^n O_i}$$

Un valor negativo (positivo) de *CRM* indica que la mayoría de los valores predichos son mayores (menores) que los valores medidos. Si *CRM* = 0 indica la ausencia de tendencia alguna en la distribución de los valores.

2.2.7. Estudio estadístico de los resultados obtenidos en los distintos procesos estudiados

La desviación estándar (SD) fue usada para indicar la variabilidad de los parámetros de adsorción, desorción, movilidad y degradación que fueron obtenidos con más de una réplica. Los valores de las constantes de adsorción fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA), y la diferencia mínima significativa (LSD) fue determinada a un intervalo de confianza del 95% para evaluar los efectos de los diferentes tratamientos en la adsorción de fungicidas por los suelos enmendados. También se llevó a cabo un análisis de regresión lineal simple y múltiple con objeto de estudiar la influencia de las propiedades de los suelos y de los residuos orgánicos en la adsorción-desorción de los fungicidas. El programa estadístico utilizado fue el Statgraphics Plus Versión 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN-DESORCIÓN Y DEL MECANISMO DE INTERACCIÓN DE FUNGICIDAS POR DIFERENTES RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS

Se estudió la capacidad de adsorción-desorción de los fungicidas por los residuos orgánicos individuales y el mecanismo de interacción por el que son retenidos, como paso previo al estudio de la adsorción de fungicidas por los suelos enmendados con residuos postcultivo de hongos (SMS). Se seleccionaron para el estudio residuos de diferente origen generados en el cultivo de los tres grupos de hongos de mayor producción mundial, *Agaricus bisporus* (champiñón) (Ag), *Pleurotus* spp. (seta) (Pl) y *Lentinula edodes* (seta Shiitake) (Sh), y se utilizaron en estado fresco sin ningún tratamiento adicional (F-Ag, F-Pl y F-Sh) o después de ser sometidos a un proceso de compostaje (C-Ag) con el fin de estudiar la influencia de la composición y/o tratamiento de los SMS en la adsorción. Como fungicidas, se seleccionaron ocho compuestos pertenecientes a los grupos químicos más ampliamente utilizados en los cultivos del viñedo con actividad fungicida: metalaxil y benalaxil (alaninas), penconazol, y tebuconazol (triazoles), pirimetanil y ciprodinil (pirimidinaminas), azoxistrobin (estrobilurinas) e iprovalicarb (carbamatos), y que presentan propiedades diferentes en cuanto a solubilidad en agua y carácter hidrofóbico.

3.1.1. Caracterización de los residuos postcultivo de hongos seleccionados

Las características de los SMS utilizados relativas a su composición elemental, contenido en materia orgánica (MO), carbono orgánico total (CO), carbono orgánico soluble (COD) y pH se incluyen en la Tabla 1. El contenido en CO y COD variaron en un amplio rango, 26.4% - 38.3% (CO) y 1.19% - 10.8% (COD), disminuyendo en un orden similar para los distintos residuos: F-Pl > F-Sh > F-Ag > C-Ag o F-Sh > F-Pl > F-Ag > C-Ag, respectivamente. Ambos contenidos de CO y COD parecen estar relacionados con la composición de los materiales originales de estos residuos, siendo más elevados en aquellos con un mayor contenido en serrín de madera (F-Pl y F-Sh). La madera debe aportar a estos materiales un alto contenido en CO debido a su riqueza en lignina y celulosa, y a su vez, un alto contenido en COD debido a los componentes solubles en agua que forman parte de su estructura, tales como flavonoides, taninos, terpenos, etc. (Sjöström, 1993).

El contenido de C, H, N, S y O del C-Ag fue menor con respecto al F-Ag ya que, aunque provienen del mismo cultivo de *Agaricus* y su composición inicial sería similar, están sometidos a un tratamiento posterior diferente. El C-Ag fue sometido a un proceso de compostaje por el cual los compuestos orgánicos originales que lo constituyen deben experimentar distintos procesos de

mineralización y humificación originados por reacciones de desoxigenación y deshidrogenación, que dan lugar a reducciones de los grupos funcionales que llevan oxígeno (carbonilos o carboxilos) y a oxidaciones de los carbonos de los grupos alifáticos, y generan finalmente estructuras más condensadas y con un mayor grado de grupos aromáticos (Weber y col., 2006; Brunetti y col., 2009). Como consecuencia de este tratamiento de compostaje la relación AH/AF, considerada como un indicador del grado de humificación de la MO de los SMS (Stevenson, 1994), aumentó en el C-Ag y fue 2 veces mayor que la del F-Ag y 6-8 veces mayor que la del F-Sh y F-Pl, respectivamente. Se observó una relación inversa significativa ($r = -0.97$, $p < 0.05$) entre este indicador del grado de humificación y el índice de polaridad (IP) de estos materiales. Este IP se expresa por la relación atómica (O+N/C), y ha sido considerado frecuentemente por distintos autores (Xing y col., 1994; Torrents y col., 1997; Rodríguez-Cruz y col., 2009) para caracterizar otros materiales orgánicos de distinta naturaleza y/o sometidos a distintos procesos de estabilización.

Los valores de pH de los SMS se encuentran en el rango 4.5-7.4, presentando los residuos F-Ag y C-Ag los valores de pH más elevados debido posiblemente a la presencia de yeso y/o carbonato en su composición, como se observó mediante difracción de rayos X (datos no incluidos).

En cuanto a los contenidos en metales pesados de los SMS incluidos también en la Tabla 1 cabe señalar que fueron siempre inferiores a los establecidos por la legislación para la aplicación al suelo de materiales orgánicos residuales (MARM, 2005). Tampoco se detectó la presencia de residuos de pesticidas en los SMS que hubieran podido ser aplicados a los hongos cultivados sobre los diferentes sustratos, de acuerdo con la información personal facilitada por el CTICH.

3.1.2. Adsorción-desorción de fungicidas por los residuos postcultivo de hongos

Adsorción de fungicidas por los SMS

Se estudió la adsorción de todos los fungicidas seleccionados por los SMS indicados y las isothermas obtenidas, incluidas en la Figura 16, se ajustaron a la ecuación de adsorción de Freundlich, descrita en la Introducción de esta Memoria, con un coeficiente de correlación $r \geq 0.97$ ($p < 0.01$). Los valores de los parámetros K_f ($\mu\text{g}^{1-n_f} \text{mL}^{n_f} \text{g}^{-1}$) y n_f determinados a partir de la forma lineal de esta ecuación se incluyen en la Tabla 6.

Todas las isothermas fueron del tipo L (no lineales) de acuerdo con la clasificación de Giles y col. (1960). Este tipo de isothermas presenta una curvatura inicial cóncava respecto al eje de concentraciones (adsorción inicial rápida), seguida de una estabilización en el máximo de adsorción cuando disminuyen los lugares disponibles para la adsorción, lo que indica una alta afinidad de los fungicidas por los SMS estudiados.

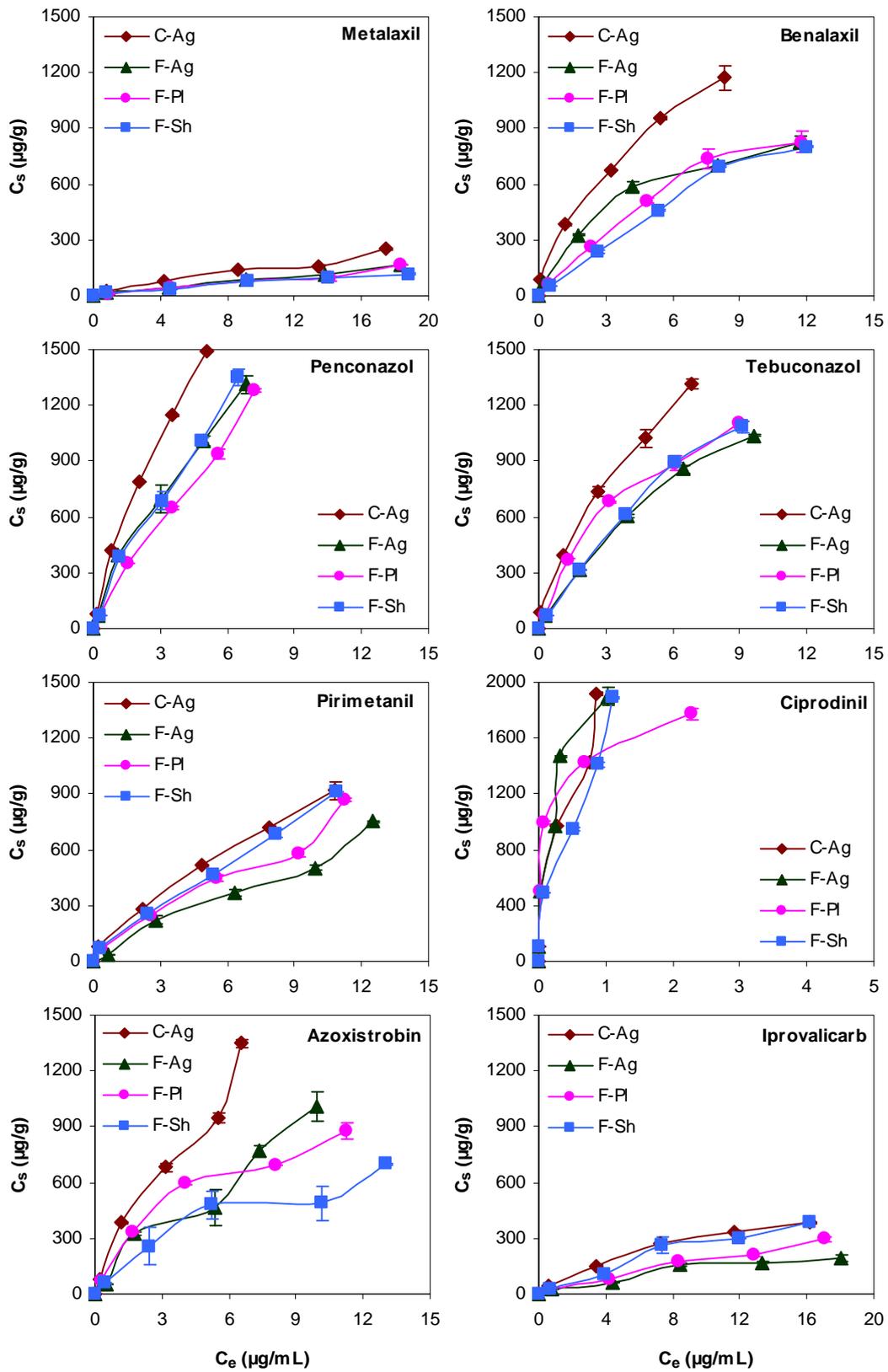


Figura 16. Isothermas de adsorción de los fungicidas por los residuos postcultivo de hongos estudiados. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Tabla 6. Constantes de adsorción de Freundlich (K_f y n_f), coeficientes de distribución (K_d) de los fungicidas por los SMS y estos coeficientes normalizados respecto al contenido de carbono orgánico (K_{CO})

Fungicida	SMS	$K_f \pm SD^a$	$n_f \pm SD$	r	$K_d \pm SD^b$	K_{CO}^c	CV^d (%)
Metalaxil	C-Ag	28.76±1.09	0.71±0.00	0.99	18.1±0.71	68.7	45.5
	F-Ag	17.75±0.90	0.73±0.05	0.99	11.5±0.30	40.5	
	F-PI	13.02±2.13	0.81±0.03	0.99	9.65±1.15	25.2	
	F-Sh	20.15±2.18	0.58±0.09	0.97	10.2±0.32	32.6	
Benalaxil	C-Ag	345.9±23.5	0.58±0.02	1.00	177±7.01	670	49.7
	F-Ag	198.9±25.8	0.64±0.04	0.99	111±6.02	388	
	F-PI	125.1±17.2	0.83±0.03	0.99	95.7±7.61	250	
	F-Sh	94.33±16.9	0.91±0.10	0.99	81.9±1.81	263	
Tebuconazol	C-Ag	395.6±16.4	0.61±0.04	0.99	212±14.1	803	32.5
	F-Ag	187.9±8.01	0.80±0.00	0.99	135±5.01	476	
	F-PI	221.8±41.9	0.81±0.14	0.98	163±6.12	426	
	F-Sh	177.4±7.41	0.87±0.00	0.99	143±7.11	459	
Penconazol	C-Ag	418.2±19.0	0.83±0.06	0.99	320±19.1	1208	38.2
	F-Ag	275.9±39.5	0.85±0.11	0.99	216±9.12	761	
	F-PI	207.8±2.41	0.92±0.04	0.99	182±9.30	473	
	F-Sh	247.6±46.7	0.93±0.04	0.99	232±16.1	744	
Pirimetanil	C-Ag	205.1±3.90	0.59±0.02	0.99	106±5.41	402	31.2
	F-Ag	63.08±37.9	0.97±0.32	0.99	60.0±6.22	211	
	F-PI	136.5±5.10	0.70±0.02	0.99	84.4±5.31	221	
	F-Sh	163.1±9.20	0.67±0.00	0.99	96.1±6.14	308	
Ciprodinil	C-Ag	1835±78.0	0.40±0.07	0.98	698±43.2	2643	35.6
	F-Ag	1742±213	0.40±0.06	0.99	661±20.0	2329	
	F-PI	1145±151	0.37±0.01	0.98	414±35.4	1079	
	F-Sh	1425±5.00	0.39±0.09	0.99	536±22.1	1715	
Azoxistrobin	C-Ag	285.9±49.3	0.79±0.02	0.99	202±18.1	765	56.7
	F-Ag	124.8±57.2	0.92±0.10	0.97	109±3.12	381	
	F-PI	193.0±5.90	0.67±0.00	0.98	113±4.13	295	
	F-Sh	118.8±25.7	0.71±0.06	0.98	73.9±7.21	237	
Iprovalicarb	C-Ag	67.51±5.08	0.65±0.05	0.99	38.6±0.31	146	46.4
	F-Ag	26.76±0.81	0.71±0.01	0.98	16.8±0.32	59.2	
	F-PI	34.59±9.16	0.72±0.11	0.99	22.1±2.01	57.8	
	F-Sh	35.85±8.07	0.87±0.07	0.99	29.3±3.53	93.9	

^a SD, desviación estándar de la media; ^b $K_d = C_s/C_e$ para una $C_e = 5 \mu\text{g mL}^{-1}$; ^c $K_{CO} = K_d \cdot 100/\text{CO}\%$; ^d CV, coeficiente de variación de K_{CO}

El rango de valores de n_f osciló entre 0.37 y 0.97 explicando la no linealidad de las isotermas y mostrando la ausencia de cualquier mecanismo de partición entre el adsorbato y el adsorbente. Este mecanismo de adsorción es análogo a un proceso de disolución y se ha observado en la adsorción de algunos pesticidas por materiales orgánicos (Sánchez-Martín y col., 2006) considerados homogéneos con respecto a sus propiedades de adsorción (Cornelissen y col., 2005). El comportamiento no lineal de las isotermas es característico de una adsorción superficial indicando, además, que en la adsorción de los fungicidas por los SMS deben estar involucradas interacciones específicas.

Los valores de n_f más bajos se encontraron para la adsorción del ciprodinil (0.37-0.40), mientras que para el resto de fungicidas el rango osciló entre 0.58 y 0.97, presentando el penconazol y el tebuconazol los valores más elevados, en general (Tabla 6). Muchos compuestos orgánicos hidrofóbicos (PAH, PCBs) y pesticidas presentan, también, isotermas de adsorción por materiales orgánicos no lineales (Cornelissen y col., 2005) y algunos investigadores han indicado que estas isotermas son obtenidas por adsorbentes orgánicos con grupos condensados o rígidos (Ran y col., 2002). De acuerdo con esto, distintos autores (Xing, 2001; Tang y Weber, 2006) han encontrado una correlación positiva entre la no linealidad de las isotermas y la aromaticidad del adsorbente, ya que los grupos condensados son altamente aromáticos.

Los resultados obtenidos muestran también, que los valores más bajos de n_f corresponden, en general, a la adsorción de los fungicidas por el C-Ag, que presenta el índice de polaridad más bajo de los SMS estudiados, y el valor más elevado del indicador del grado de humificación AH/AF (Tabla 1), relacionado con un contenido alto en compuestos de tipo húmico o aromático. En general, se encontró una relación inversa entre los valores de n_f y los valores de AH/AF para todos los fungicidas, aunque sólo llegó a ser significativa para el tebuconazol ($r = -0.96$, $p < 0.05$) debido posiblemente al bajo número de muestras relacionadas.

Los valores de la constante de adsorción K_f variaron en un amplio rango, 13.02-1835 (Tabla 6). La adsorción de los fungicidas con una estructura similar aumentó con el incremento del K_{ow} del compuesto, y la mayor adsorción se observó para el ciprodinil. Dado que los valores de n_f son diferentes de 1 se determinaron, a partir de las isotermas de adsorción, los coeficientes de distribución K_d a una concentración de equilibrio intermedia ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$), en el rango de concentración utilizado para la adsorción, con el fin de comparar la capacidad de adsorción de los fungicidas por los residuos. Los coeficientes de distribución han sido utilizados frecuentemente por muchos autores (Morillo y col., 2002; Sánchez y col., 2003a; Regitano y Koskinen, 2008) para evitar errores en la comparación de las cantidades adsorbidas asociados a los diferentes valores de n_f .

Los coeficientes de distribución K_d (mL g^{-1}) variaron entre 9.65 y 698 (Tabla 6), correspondiendo los valores de K_d más elevados a la adsorción de los fungicidas por el residuo C-Ag,

mientras que la adsorción de los fungicidas por los residuos F-Ag, F-Pl y F-Sh fue muy variable. Los resultados encontrados en la bibliografía para algunos de los compuestos estudiados indican que la adsorción obtenida para metalaxil por los SMS fue más alta que la registrada por otros residuos orgánicos (de Wilde y col., 2009; Karanasios y col., 2010a), aunque fue más baja que la obtenida por Rodríguez-Cruz y col. (2008a, 2009) por arcillas modificadas con surfactantes catiónicos de cadena larga o por ligninas. También la adsorción de penconazol fue más baja que la encontrada por organo arcillas por Rodríguez-Cruz y col. (2008a). Sobre la adsorción de los demás fungicidas estudiados por otros materiales orgánicos no se han encontrado datos en la bibliografía.

Se estudió la influencia de las características de los residuos y de los fungicidas en la adsorción mediante una aproximación estadística, y se encontraron relaciones negativas aunque no significativas entre los valores de K_d y los contenidos en CO o COD para todos los fungicidas estudiados. El residuo C-Ag presenta el contenido más bajo de CO, aunque la adsorción de los fungicidas por este residuo fue la más alta, debido posiblemente al menor contenido en COD y/o al mayor grado de humificación del CO expresado por la relación AH/AF (Tabla 1). En este sentido cabe señalar que algunos investigadores han encontrado un incremento en la capacidad de adsorción de compuestos orgánicos y/o pesticidas por ácidos húmicos y materiales orgánicos cuando el grado de humificación aumenta (Iglesias-Jiménez y col., 1997). Tampoco se encontró una correlación significativa entre los valores de K_d y el pH de los SMS, aunque algunos autores han indicado que cambios de hidrofobicidad de materiales orgánicos tales como ligninas o *black carbon* inducidas por el pH podían afectar a la adsorción de compuestos orgánicos polares y no polares (Wang y col., 2007; Qiu y col., 2009).

La falta de correlación entre los coeficientes K_d y el contenido en CO está de acuerdo con los diferentes valores de K_d normalizados con el contenido de CO (K_{CO}) (Tabla 6). Los valores de K_{CO} revelaron la influencia de la diferente composición y estructura química de los materiales orgánicos constituyentes de los SMS sobre la adsorción de los fungicidas. Estos valores de K_{CO} no disminuyeron la variabilidad de los valores de K_d , y los coeficientes de variación (CV) entre los valores de K_{CO} de los diferentes adsorbentes oscilaron entre 31.2% (pirimetanil) y 56.7% (azoxistrobin) (Tabla 6). Para evaluar esta variabilidad de los valores de K_{CO} se utilizó el IP de los adsorbentes, ya que esta propiedad se ha utilizado frecuentemente en la bibliografía para predecir la adsorción de los compuestos hidrofóbicos por materiales orgánicos (Rutherford y col., 1992; Wang y col., 2011), y ha sido utilizada también por Rodríguez-Cruz y col. (2009) para predecir la adsorción de pesticidas por ligninas y ácido húmico. Se encontró una correlación lineal negativa entre el K_{CO} de los fungicidas y el IP de los diferentes adsorbentes utilizados ($r = -0.98$, $p < 0.05$ para metalaxil y benalaxil; $r = -0.95$, $p < 0.05$ para penconazol; $r = -0.92$, $p < 0.1$ para tebuconazol; $r = -0.94$, $p < 0.05$ para azoxistrobin y $r = -0.94$, $p < 0.05$ para ciprodinil), excepto para los fungicidas pirimetanil e iprovalicarb donde la correlación negativa no llegó a ser significativa.

También se obtuvo un coeficiente de correlación positivo significativo ($r \geq 0.91$, $p < 0.01$) entre las constantes de adsorción K_{CO} y los valores de K_{ow} de los fungicidas para cada uno de los SMS utilizados. La regresión lineal entre K_{CO} y K_{ow} , cuando se consideraron conjuntamente todos los fungicidas y todos los tipos de SMS ($n=32$), fue altamente significativa ($r= 0.84$, $p < 0.001$), y el coeficiente de determinación R^2 reveló que el 70% de la variabilidad de K_{CO} podría explicarse por los valores de K_{ow} de los fungicidas.

Este coeficiente de correlación aumentó ligeramente cuando se calculó K_{CO} considerando tanto las propiedades del adsorbente como las del adsorbato a través del IP y el K_{ow} . La ecuación obtenida: $K_{CO} = (1074 \pm 332) + (0.164 \pm 0.017) K_{ow} - (1570 \pm 482) IP$, pone de manifiesto una correlación significativa entre K_{CO} y los parámetros estudiados para un nivel de confianza del 95%, y el valor de R^2 reveló que más del 77% de la variabilidad del K_{CO} podría explicarse por el K_{ow} del fungicida y el IP del adsorbente. En la bibliografía se han descrito ecuaciones con variables similares para relacionar la adsorción de pesticidas no iónicos por adsorbentes orgánicos con IP entre 0.49 y 1.11 (Torrents y col., 1997; Rodríguez-Cruz y col., 2009), que muestran también que un porcentaje de $\sim 90\%$ de la adsorción podía explicarse por el K_{ow} de los pesticidas y el IP de los adsorbentes.

También se estudió la inclusión en la correlación de otras propiedades de los adsorbentes (CO, COD o pH) y de los adsorbatos (solubilidad en agua), pero se descartaron del modelo ya que las regresiones múltiples obtenidas no fueron significativas.

Desorción de los fungicidas desde los SMS

Las isothermas de desorción de los fungicidas desde los SMS se ajustaron también a la ecuación de Freundlich, con valores de $r \geq 0.88$ ($p < 0.05$) (Tabla 7). Los coeficientes de desorción de Freundlich, K_{fd} ($\mu\text{g}^{1-n_{fd}} \text{ mL}^{n_{fd}} \text{ g}^{-1}$), representan la cantidad de fungicida que queda adsorbida (después de la desorción) para una concentración de equilibrio igual a la unidad. Los valores de K_{fd} más altos y los más bajos corresponden, en general, a las isothermas de desorción de todos los fungicidas desde los residuos C-Ag y F-Sh, respectivamente. Dependiendo de la histéresis de la desorción, los valores de K_{fd} fueron mayores ($H > 1$) o menores ($H < 1$) que los valores de K_f . Los coeficientes de histéresis (H) ($H = n_f/n_{fd}$) obtenidos para la desorción variaron con la naturaleza de los SMS y, principalmente, con el K_{ow} del pesticida. Por lo tanto, los valores de H más elevados (3.07-32.9) correspondieron a la desorción del ciprodinil ($\log K_{ow} = 4.0$), y los más bajos (0.16-0.44) a la desorción de metalaxil ($\log K_{ow} = 1.75$) para todos los SMS. Los valores de H fueron bastante bajos para el iprovalicarb (< 1), y para penconazol, tebuconazol, pirimetanil y azoxistrobin fueron ≤ 1 en el caso de los SMS con el mayor contenido en COD (F-PI y F-Sh), y fueron > 1 para C-Ag y F-Ag.

Tabla 7. Constantes de desorción de Freundlich (K_{fd} y n_{fd}) de los fungicidas por los SMS y coeficientes de histéresis (H)

Fungicida	SMS	$K_{fd} \pm SD^a$	$n_{fd} \pm SD$	r	H $\pm SD$
Metalaxil	C-Ag	2.662 \pm 0.59	1.64 \pm 0.11	0.98	0.44 \pm 0.03
	F-Ag	0.296 \pm 0.06	2.22 \pm 0.04	0.99	0.33 \pm 0.03
	F-PI	0.048 \pm 0.07	2.87 \pm 0.61	0.97	0.28 \pm 0.07
	F-Sh	0.006 \pm 0.00	3.54 \pm 0.33	0.97	0.16 \pm 0.01
Benalaxil	C-Ag	461.9 \pm 16.0	0.42 \pm 0.04	0.98	1.38 \pm 0.09
	F-Ag	249.1 \pm 10.6	0.50 \pm 0.05	0.99	1.27 \pm 0.20
	F-PI	198.3 \pm 22.0	0.61 \pm 0.10	0.94	1.36 \pm 0.18
	F-Sh	134.7 \pm 4.60	0.75 \pm 0.07	0.98	1.21 \pm 0.27
Tebuconazol	C-Ag	538.0 \pm 18.9	0.41 \pm 0.03	0.93	1.49 \pm 0.00
	F-Ag	317.8 \pm 1.71	0.47 \pm 0.02	0.88	1.70 \pm 0.08
	F-PI	184.6 \pm 28.6	0.81 \pm 0.08	0.97	1.00 \pm 0.27
	F-Sh	170.8 \pm 6.22	0.79 \pm 0.01	0.98	1.09 \pm 0.02
Penconazol	C-Ag	951.4 \pm 60.7	0.25 \pm 0.03	0.94	3.38 \pm 0.46
	F-Ag	561.3 \pm 78.1	0.46 \pm 0.03	0.92	1.86 \pm 0.36
	F-PI	235.9 \pm 24.4	0.85 \pm 0.02	0.98	1.07 \pm 0.07
	F-Sh	140.4 \pm 6.61	1.20 \pm 0.04	0.98	0.78 \pm 0.07
Pirimetanol	C-Ag	205.7 \pm 6.20	0.65 \pm 0.01	0.99	0.92 \pm 0.02
	F-Ag	124.5 \pm 10.8	0.75 \pm 0.05	0.98	1.30 \pm 0.35
	F-PI	84.29 \pm 4.44	0.96 \pm 0.02	0.99	0.73 \pm 0.00
	F-Sh	38.00 \pm 9.16	1.29 \pm 0.05	0.99	0.52 \pm 0.02
Ciprodinil	C-Ag	1885 \pm 2.12	0.01 \pm 0.00	0.89	32.9 \pm 5.07
	F-Ag	1809 \pm 1.34	0.02 \pm 0.00	0.88	17.1 \pm 0.09
	F-PI	1662 \pm 17.1	0.12 \pm 0.05	0.99	3.07 \pm 1.54
	F-Sh	1858 \pm 16.3	0.08 \pm 0.01	0.89	4.93 \pm 3.45
Azoxistrobin	C-Ag	409.1 \pm 60.7	0.62 \pm 0.10	0.98	1.26 \pm 0.25
	F-Ag	272.0 \pm 29.0	0.59 \pm 0.12	0.94	1.55 \pm 0.33
	F-PI	181.4 \pm 37.6	0.70 \pm 0.13	0.92	0.96 \pm 0.25
	F-Sh	1.883 \pm 4.131	2.41 \pm 0.30	0.98	0.29 \pm 0.02
Iprovalicarb	C-Ag	28.90 \pm 17.1	0.98 \pm 0.21	0.98	0.67 \pm 0.19
	F-Ag	1.438 \pm 2.09	1.70 \pm 0.59	0.99	0.42 \pm 0.13
	F-PI	0.697 \pm 1.98	2.15 \pm 0.97	0.99	0.34 \pm 0.19
	F-Sh	16.69 \pm 2.63	1.06 \pm 0.08	0.98	0.83 \pm 0.00

^aSD, desviación estándar de la media

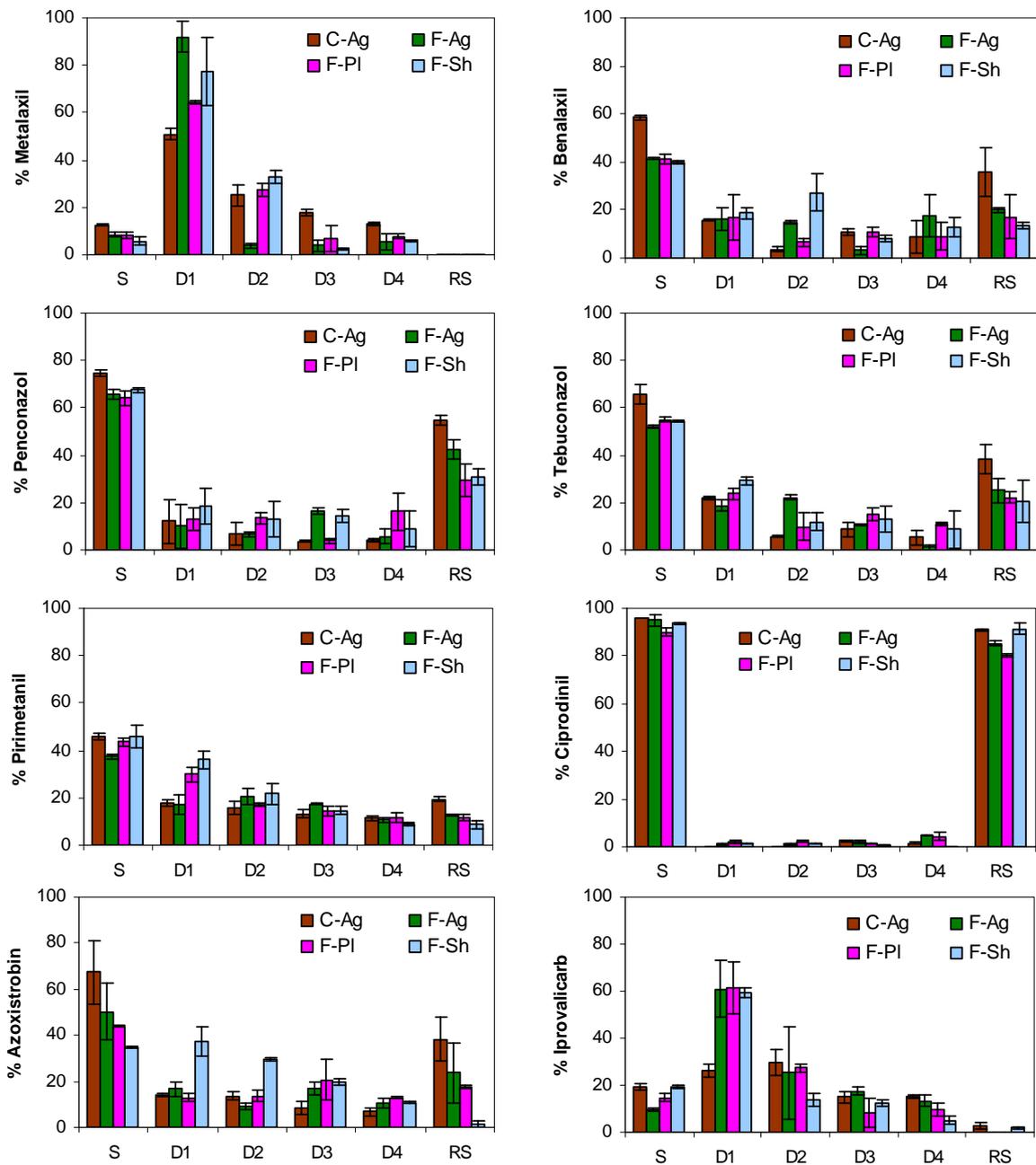


Figura 17. Cantidades de fungicida adsorbidas (S) para una concentración inicial de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, cantidades desorbidas en las sucesivas etapas de desorción (D1, D2, D3 y D4), y cantidades que permanecen adsorbidas después de la desorción (RS). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Con objeto de evaluar la eficiencia de estos materiales orgánicos como adsorbentes, se determinó la cantidad de fungicida que permanecía adsorbido por el SMS después de la desorción. La Figura 17 incluye las cantidades adsorbidas (S), expresadas como porcentajes de la cantidad de fungicida en la solución acuosa para una concentración inicial de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$, las cantidades desorbidas en cada una de las sucesivas etapas de desorción (D1, D2, D3 y D4), expresadas como porcentajes del fungicida adsorbido por los adsorbentes para esta concentración inicial, y las cantidades que permanecen adsorbidas (RS) después de la desorción, expresadas como porcentajes del fungicida inicialmente adsorbido por los adsorbentes.

Como se esperaba, se encontró una correlación significativa entre RS y el K_{ow} de los fungicidas ($r = 0.89$, $p < 0.01$). De acuerdo con esto, los valores de RS más bajos se encontraron para el metalaxil (0%) y los más elevados para el ciprodinil (> 80%) con todos los SMS. Se obtuvieron valores de $RS \geq 20\%$ para el ciprodinil (> 85%), penconazol (> 42%), tebuconazol (> 25%), benalaxil (> 20%) o azoxistrobin (> 23%) después de la desorción desde los residuos C-Ag y F-Ag (adsorbentes menos polares), y para el ciprodinil (> 80%), penconazol (> 29%) o tebuconazol (> 20%), desde los residuos F-Pl y F-Sh (adsorbentes más polares). Estos resultados indican una eficiencia significativa de todos los SMS para la adsorción de ciprodinil, penconazol y tebuconazol, mientras que para la adsorción del iprovalicarb ($\log Kow = 3.2$) la eficiencia de los SMS fue muy baja y similar a la del metalaxil ($\log Kow = 1.75$), a pesar de su mayor carácter hidrofóbico. El iprovalicarb es un fungicida de la familia de los carbamatos con grupos polares en su molécula y en la bibliografía se indica que los compuestos de esta familia presentan una baja afinidad por la MO (Sheng y col., 2001).

3.1.3. Mecanismo de interacción SMS-fungicidas

La identificación de los principales grupos funcionales de los fungicidas y de los SMS implicados en la interacción fungicida-SMS responsable del proceso de adsorción se llevó a cabo por FTIR. Se obtuvieron espectros de infrarrojos de los SMS individuales, de los fungicidas estudiados y de las muestras de los SMS con los fungicidas adsorbidos. Los espectros de los SMS se muestran en la Figura 18, siendo posible observar en todos ellos, bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales de los materiales constituyentes de los SMS. Todos los espectros presentan una banda ancha e intensa alrededor de 3400 cm^{-1} correspondiente a la vibración de valencia de los grupos OH enlazados, picos agudos en la región $2968\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$ correspondientes a las vibraciones de valencia C-H en los grupos metil/metileno, una banda de absorción alrededor de 1730 cm^{-1} debida principalmente a vibraciones de valencia del C=O de grupos carboxílico, carbonilo o amidas, y bandas de absorción en la región $1630\text{-}1500 \text{ cm}^{-1}$, atribuidas a vibraciones C=C/C=N de anillos aromáticos, y en la región $1460\text{-}650 \text{ cm}^{-1}$ atribuidas a vibraciones de deformación C-H de grupos alifáticos y aromáticos ($1457\text{-}1416 \text{ cm}^{-1}$), de deformación y de valencia

de los grupos OH de los carboxilos o grupos alcohol ($1384\text{-}1322$, $1158\text{-}1031\text{ cm}^{-1}$), y de deformación C-O de grupos aromáticos, éter o epóxido ($1290\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$) (Bellamy, 1975; Zmora-Nahum y col., 2007).

Las frecuencias de las bandas características de cada uno de los SMS, incluidas también en la Figura 18, indican cambios o pequeñas diferencias en las mismas relativas a la composición y/o tratamiento de los SMS. Así, los espectros de todos los SMS mostraron cambios principalmente en las bandas en las regiones $2968\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ y $1460\text{-}650\text{ cm}^{-1}$. Además, los espectros FTIR de F-PI y F-Sh mostraron una banda de absorción más ancha a 1732 cm^{-1} y picos más intensos en el rango $1460\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ en relación con los espectros FTIR de C-Ag y F-Ag. Esto indicaría una disminución de grupos carboxílico, carbonilo o amidas y la pérdida de algunas señales características de materiales estructuralmente identificables en el SMS compostado después de la humificación de la MO, y podría corresponderse con un incremento en la cantidad de carbonos aromáticos y parafínicos en los residuos C-Ag y F-Ag que presentan un menor índice de polaridad (Kelleher y col., 2006).

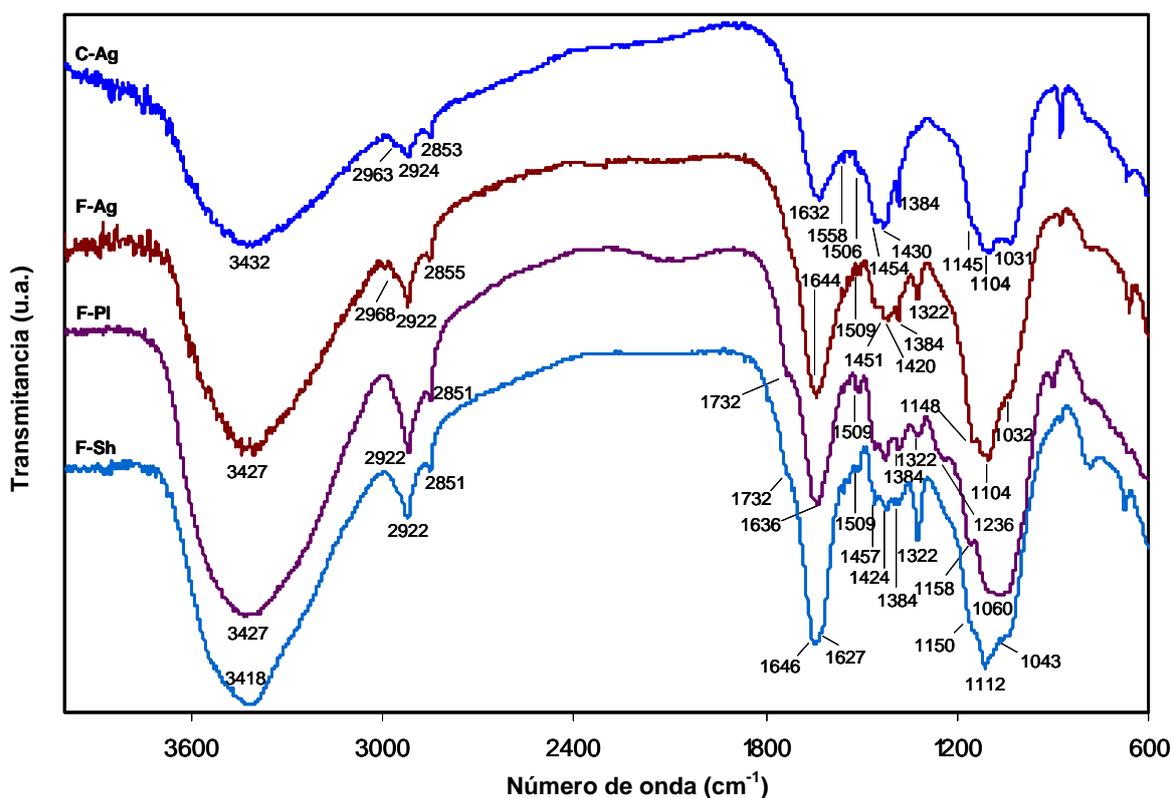


Figura 18. Espectros FTIR de los SMS estudiados procedentes del cultivo de *Agaricus bisporus* compostado (C-Ag) y fresco (F-Ag), de *Pleurotus spp.* (F-PI) y de Shiitake (F-Sh)

Los espectros FTIR de los SMS-fungicidas mostraron bandas correspondientes a los SMS y a los fungicidas, observándose algunos cambios en las frecuencias de bandas de absorción características de los SMS y de los fungicidas adsorbidos. En la Figura 19 se incluyen los espectros FTIR obtenidos correspondientes a los fungicidas no adsorbidos y adsorbidos por dos de los SMS de diferente polaridad (C-Ag y F-PI) en la zona 2000 - 600 cm^{-1} .

En todos los espectros SMS-metalaxil y SMS-benalaxil se observaron cambios de frecuencia en las bandas de absorción correspondientes a los grupos C=O y C-N de estos fungicidas con grupos acilalaninatos. Las frecuencias de estos grupos aparecen a 1758 y 1671 cm^{-1} para metalaxil, y a 1752 y 1659 cm^{-1} para benalaxil, en estado libre, y cuando están adsorbidos por los SMS se desplazan a frecuencias más bajas (hasta 1747 ó 1744 cm^{-1} para metalaxil y benalaxil, respectivamente, adsorbidos por C-Ag) o más altas (hasta 1683 y 1665 cm^{-1} para metalaxil y benalaxil adsorbidos por F-Ag o F-PI, respectivamente). Estas modificaciones indican la existencia de una interacción y/o posible formación de enlaces de hidrógeno entre el grupo carboxilo y amida de estos compuestos y los grupos hidroxilo o fenólicos de la compleja estructura de los SMS (Rodríguez-Cruz y col., 2009).

Los espectros de tebuconazol y penconazol mostraron bandas de absorción correspondientes a las estructuras aromáticas (clorofenil, triazol) de estos compuestos en el rango de frecuencias 1600-1450 cm^{-1} y se observaron cambios, aunque muy poco significativos, en algunas de estas bandas en los espectros de los fungicidas adsorbidos por los SMS (Figura 19). La formación de enlaces vía transferencia de carga (interacciones $\pi - \pi$), involucrando al anillo bencénico y/o triazol de los fungicidas y los núcleos aromáticos de los constituyentes de los SMS, podría tener lugar en la adsorción de estos compuestos, como han indicado algunos autores para la adsorción de pesticidas con grupos fenilos y bajo impedimento estérico en la molécula, por ácidos húmicos (Liu y col., 2000) o por ligninas (Rodríguez-Cruz y col., 2009). Sin embargo, estos autores indicaron que este mecanismo de interacción implica un aumento en las frecuencias del anillo aromático, y en los espectros de SMS-penconazol o SMS-tebuconazol sólo se han observado cambios a frecuencias más bajas, hasta 1505 y 1473 cm^{-1} en las bandas de absorción de penconazol, y hasta 1506 y 1489 cm^{-1} en las correspondientes al tebuconazol después de la adsorción de estos compuestos por los SMS. Por lo tanto, cabe suponer que otros mecanismos de interacción, específicos (como fuerzas de van der Waals o la formación de enlaces de hidrógeno) o no específicos (como enlaces hidrofóbicos), podrían ser responsables de la interacción de estos fungicidas con los SMS, y esto estaría de acuerdo con la mayor linealidad de las isothermas de adsorción obtenidas por estos fungicidas con grupos triazoles en su molécula.

En los espectros de los SMS con los fungicidas de la familia de las pirimidinaminas (pirimetanil y ciprodinil) adsorbidos se observaron cambios, generalmente a frecuencias más bajas, en las bandas de absorción correspondientes a los grupos NH y CN (1614, 1567, 1551 y 1439 cm^{-1} para pirimetanil y 1607, 1556, 1540 y 1444 cm^{-1} para ciprodinil) del grupo N-fenil-pirimidinamina

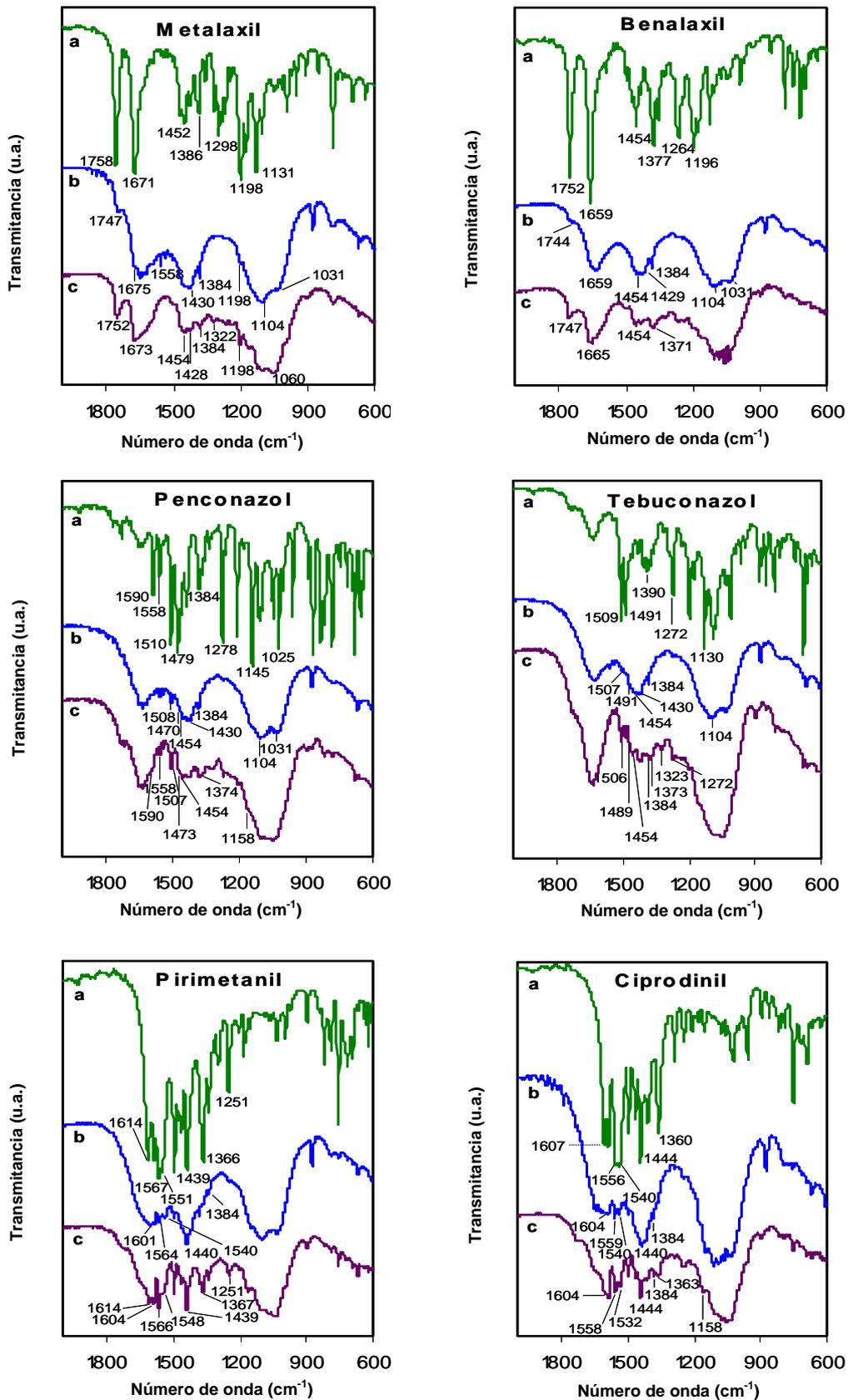


Figura 19. Espectros FTIR de los fungicidas no adsorbidos (a) y adsorbidos por los residuos procedentes del cultivo de *Agaricus bisporus* (C-Ag) (b) y de *Pleurotus spp* (F-PI) (c)

(Figura 19), indicando que la adsorción de estos fungicidas por los SMS se produce mediante la formación de enlaces de hidrógeno entre el grupo pirimidinamina y los grupos carbonilo o carboxilo de los residuos orgánicos (Senesi y col., 1995).

Los espectros de los fungicidas azoxistrobin e iprovalicarb adsorbidos por los SMS mostraron pocas bandas de absorción correspondientes a los fungicidas. Ambos compuestos podrían ser adsorbidos por diferentes mecanismos, mediante interacciones entre los grupos C=O, fenilos o pirimidilos de los fungicidas y los grupos OH y/o aromáticos de los SMS. Sin embargo, los espectros obtenidos sugieren que solamente están implicadas fuerzas de van der Waals. La posibilidad de que no todos los grupos funcionales de los componentes orgánicos de los SMS pudieran estar disponibles para el enlace de estos grandes compuestos orgánicos cuando son adsorbidos por los SMS (Gevao y col., 2000) podría explicar este comportamiento y también la mayor desorción de estos fungicidas, especialmente a partir del SMS con un alto contenido en COD.

Las modificaciones en las bandas de absorción de los fungicidas adsorbidos podrían considerarse similares en cuanto a los grupos implicados en las interacciones con los distintos SMS aunque se observaron pequeñas diferencias en cuanto a las modificaciones en las frecuencias (Figura 19). Sin embargo, los cambios observados en las frecuencias de algunas bandas de absorción de los SMS que, aunque no fueron muy relevantes, indicaron la implicación de los grupos funcionales de los materiales orgánicos que constituyen los SMS en la adsorción de los fungicidas, no permitieron establecer diferencias entre los distintos tipos de SMS estudiados.

3.2. ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN-DESORCIÓN DE FUNGICIDAS POR DIFERENTES SUELOS DE VIÑEDO DE LA RIOJA SIN ENMENDAR Y ENMENDADOS CON LOS RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS

Se determinó la capacidad de adsorción de los ocho fungicidas seleccionados por una serie de diez suelos de viñedo de La Rioja con distintas características con el fin de conocer, inicialmente, la influencia de las propiedades de estos suelos en la adsorción. Posteriormente, se estudió la adsorción de los fungicidas por los mismos suelos enmendados con dos residuos postcultivo de hongos seleccionados (C-Ic y F-Sh), de acuerdo con los resultados obtenidos en el Apartado 3.1.2. de esta Memoria, y se evaluó el efecto de la enmienda de los suelos con los SMS en la adsorción de los distintos fungicidas. A partir de los resultados obtenidos en los estudios preliminares de adsorción, se seleccionó el suelo de Aldeanueva (Al), con bajo contenido en CO (< 1%), y cuatro fungicidas representativos de los diferentes grupos químicos estudiados (metalaxil, penconazol, pirimetanil e iprovalicarb) para el estudio de la influencia de la dosis de enmienda, y del tiempo de tratamiento del suelo con el residuo SMS en la adsorción de los fungicidas. La dosis de enmienda se estudió para conocer el efecto de diferentes aportaciones de CO y COD en la adsorción, y el tiempo de tratamiento se estudió porque el contenido en CO de los suelos enmendados con los residuos puede disminuir en condiciones ambientales por mineralización y/o evolucionar a formas más estables por humificación al aumentar el tiempo de tratamiento del suelo con los residuos.

3.2.1. Adsorción de fungicidas por suelos de viñedo: Influencia de las propiedades de los suelos

Se determinaron los coeficientes de distribución K_d de los ocho fungicidas seleccionados por los 10 suelos de viñedo de La Rioja de distintas características (Tabla 2), sin enmendar, como indicadores de la adsorción. Los valores obtenidos para una concentración inicial de fungicida de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ se incluyen en la Tabla 8.

Los valores de K_d medios para todos los suelos oscilaron entre 0.28 mL g^{-1} para el fungicida menos hidrofóbico, metalaxil, y 12.7 mL g^{-1} para el más hidrofóbico, ciprodinil. Este orden de adsorción se mantuvo, en general, para todos los suelos y se observó para todos ellos una correlación lineal positiva ($r \leq 0.79$, $p < 0.05$) entre los valores de K_d y los valores de K_{ow} de los fungicidas, aunque para los suelos S1, S2 y S5 no llegó a ser significativa ($r \leq 0.52$, $p > 0.1$).

En la bibliografía existen algunos estudios sobre la adsorción de fungicidas por suelos, siendo el metalaxil el compuesto más frecuentemente estudiado. Los coeficientes de adsorción/distribución obtenidos en este trabajo son similares a los encontrados por Andrades y col. (2001) para la adsorción de este fungicida por suelos de viñedo con contenido en MO entre

Tabla 8. Coeficientes de adsorción K_d (mL g^{-1}) de fungicidas por suelos sin enmendar y enmendados con los residuos C-Ic y F-Sh

Fungicida	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	AI	SA	V	K_d^a	CV^b
Metalaxil	0.60	0.16	0.25	0.24	0.17	0.18	0.24	0.21	0.35	0.39	0.28	49
Benalaxil	8.11	1.32	1.67	2.00	0.44	0.80	0.90	2.45	2.79	4.40	2.49	92
Tebuconazol	10.1	2.94	2.46	0.73	0.50	1.36	1.05	3.26	4.44	5.61	3.24	90
Penconazol	13.8	2.74	4.19	2.03	0.72	2.49	1.56	4.20	8.09	8.86	4.86	85
Pirimetanil	5.45	1.19	2.37	1.31	0.18	0.74	0.64	1.54	2.75	2.66	1.88	81
Ciprodinil	72.4	18.4	8.06	3.28	1.66	1.88	2.63	6.50	4.07	8.22	12.7	169
Azoxistrobin	7.75	1.48	2.05	1.29	1.05	1.12	1.74	2.44	3.29	4.80	2.70	78
Iprovalicarb	2.34	1.02	0.69	0.37	0.85	1.39	1.16	1.64	1.95	2.12	1.35	48
Suelos+C-Ic10												
Metalaxil	1.89	1.45	1.56	1.67	1.40	1.59	1.47	1.45	1.80	1.51	1.58	10
Benalaxil	13.0	8.89	11.6	17.3	20.7	7.67	11.4	7.83	8.59	11.6	11.9	34
Tebuconazol	52.6	50.4	50.4	61.5	67.4	72.1	61.1	80.6	88.9	107	69.2	27
Penconazol	39.2	32.9	32.9	37.6	35.8	38.1	33.6	38.0	40.1	34.6	36.3	7.3
Pirimetanil	28.6	25.3	27.7	27.4	23.4	26.4	19.6	17.2	27.1	25.0	24.8	15
Ciprodinil	1248	767	415	231	1109	225	225	383	712	225	554	70
Azoxistrobin	13.2	20.4	32.1	7.40	41.5	44.2	12.5	9.70	27.2	17.2	22.5	59
Iprovalicarb	6.67	4.91	3.55	3.53	4.45	4.73	2.47	2.26	3.68	4.32	4.08	32
Suelos+F-Sh10												
Metalaxil	0.66	0.23	0.45	0.42	0.18	0.41	0.56	0.89	0.41	0.51	0.47	43
Benalaxil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tebuconazol	31.1	33.3	50.4	10.2	11.7	9.93	10.4	12.8	12.1	11.7	19.4	72
Penconazol	19.4	13.6	17.2	15.2	14.0	15.9	13.9	17.1	16.8	17.0	16.0	11
Pirimetanil	10.4	9.46	9.75	10.3	7.59	8.10	9.49	10.1	8.34	9.05	9.26	10
Ciprodinil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Azoxistrobin	3.91	3.28	8.73	4.29	5.09	4.43	3.83	1.79	1.96	2.57	3.99	39
Iprovalicarb	3.16	2.54	4.03	4.10	3.20	3.53	3.22	4.00	3.43	2.03	3.53	15

^a K_d , valor medio de los coeficientes de adsorción obtenidos en todos los suelos

^b CV, coeficiente de variación (%) de los valores de K_d obtenidos en todos los suelos

0.31%-1.37% o menores a los encontrados por Fernandes y col. (2003) para su adsorción por suelos del sur de España y Portugal con contenidos en MO entre 0.45%-2.54%. También se han encontrado algunos estudios de adsorción por suelos para los compuestos penconazol, tebuconazol, azoxistrobin, pirimetanil y ciprodinil, siendo en general, los valores de las constantes de adsorción/distribución obtenidos mayores que las determinadas en el presente trabajo, debido posiblemente al mayor contenido en MO de los suelos utilizados en los respectivos estudios. Así, los valores de K_d obtenidos para el penconazol variaron entre 3.15-16.4 (Sánchez-Martín y col., 2000) o entre 0.95-3.05 (Singh, 2002 y 2005), para el tebuconazol entre 7.7-16.4 (FAO, 1994) o entre 10.5-42.2 (Dousset y col., 2010), mientras que Bending y col. (2007) determinaron un valor medio de K_d de 12.4 para este fungicida y de 13.9 para el azoxistrobin. González-Pradas y col. (1999) encontraron valores de K_d entre 1.01-4.62 para el pirimetanil, y Arias y col. (2005) determinaron valores de K_d (54-110) mucho más elevados que los obtenidos en nuestro caso para el ciprodinil. Respecto a los fungicidas benalaxil e iprovalicarb, únicamente se han encontrado datos de adsorción por un suelo para benalaxil ($K_d = 41.5$) (Patakioutas y col., 2002) y para iprovalicarb se ha indicado un valor medio de K_d de 0.79 correspondiente a 5 suelos (ECHCD, 2002).

La influencia de las propiedades de los suelos en la adsorción de los fungicidas se estudió a partir de la determinación de las correlaciones simples entre los coeficientes de distribución de los fungicidas (K_d) y las características de los suelos mediante un análisis de regresión lineal. Los coeficientes de correlación (r) obtenidos, incluidos en la Tabla 9, mostraron que no existía correlación significativa entre las constantes de adsorción y las variables del suelo pH, carbonatos, arena, limo o arcilla, para ninguno de los fungicidas estudiados, aunque en la bibliografía existen trabajos que han indicado correlaciones significativas de la adsorción con algunos de estos parámetros del suelo. Para metalaxil y penconazol se ha encontrado una correlación con la arcilla (Andrades y col., 2001; Singh, 2002) y para azoxistrobin se ha encontrado una correlación negativa con la arena y positiva con el limo (Kodesová y col., 2010).

Sin embargo, se observó la existencia de una correlación significativa entre los valores de K_d y el contenido en CO de los suelos (Tabla 9), indicando que el CO natural del suelo llega a explicar más del 89% de la variabilidad de la adsorción expresada por el coeficiente K_d ($r \geq 0.94$, $p < 0.001$) para los fungicidas metalaxil, benalaxil, tebuconazol, penconazol, pirimetanil y azoxistrobin, y más del 56% ($r \geq 0.75$, $p < 0.05$) para el ciprodinil e iprovalicarb. Estos resultados ponían de manifiesto la influencia del CO en la adsorción de los fungicidas por los suelos y, en consecuencia, el interés de conocer la posible modificación en la adsorción de estos compuestos por los suelos enmendados con los SMS, dado que la aplicación de estos residuos origina un incremento en el contenido de MO de los suelos.

En la bibliografía existen trabajos que han indicado la influencia del CO del suelo natural o procedente de residuos orgánicos aplicados al suelo como enmiendas en la adsorción de metalaxil y/o penconazol (Andrades y col., 2001, 2004; Rodríguez-Cruz y col., 2007b, 2008b), tebuconazol

(Komárek y col., 2010), pirimetanil (Capri y col., 2001; Baglieri y col., 2009), ciprodinil (Arias y col., 2005; Fenoll y col., 2011) y azoxistrobin (Ghosh y Singh, 2009; Kodesová y col., 2010), aunque no existen trabajos publicados referentes a la influencia de los SMS en la adsorción de fungicidas por suelos.

Tabla 9. Coeficientes de correlación simple (r) entre los coeficientes de distribución K_d y las características de los suelos

Fungicida	pH	CO	Carbonatos	Arena	Limo	Arcilla
Metalaxil	- 0.230	0.941***	0.281	- 0.404	0.369	0.373
Benalaxil	- 0.287	0.955***	0.170	- 0.316	0.350	0.243
Tebuconazol	- 0.205	0.971***	0.136	- 0.148	0.225	0.066
Penconazol	- 0.282	0.989***	0.195	- 0.154	0.140	0.143
Pirimetanil	- 0.391	0.945***	0.030	- 0.299	0.299	0.256
Ciprodinil	- 0.092	0.751*	0.024	- 0.348	0.571 ⁺	0.121
Azoxistrobin	- 0.163	0.975***	0.239	- 0.270	0.296	0.211
Iprovalicarb	0.060	0.826**	0.294	0.173	- 0.142	0.172

⁺ p < 0.1, * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

De acuerdo con esto se llevó a cabo, como estudio preliminar, la adsorción de los fungicidas por todos los suelos de viñedo enmendados con dos SMS seleccionados a una dosis del 10% en peso. Se consideró de interés estudiar el efecto de dos residuos con diferentes características, uno compostado y otro sin compostar. Como residuo compostado se seleccionó el procedente del cultivo de *Agaricus* por su mayor capacidad de adsorción (Tabla 6), y se utilizó el residuo compostado INTRACOMPOST SPCH-SPS (C-Ic), que se comercializa actualmente como enmienda orgánica (MARM, 2007), y que está compuesto principalmente por el residuo procedente del cultivo de *Agaricus* (75%) y de *Pleurotus* en menor proporción (25%). El residuo sin compostar procedía del cultivo de Shiitake (F-Sh), sin ningún tratamiento adicional a los que habitualmente son sometidos estos residuos después del cultivo de hongos, y se seleccionó por su mayor contenido en carbono orgánico soluble (COD) y la posible influencia de este parámetro en la movilidad de los fungicidas en los suelos enmendados.

El contenido de CO de los suelos aumentó después de la aplicación de los residuos hasta 3.26%-4.81% para los suelos enmendados con C-Ic y hasta 3.25%-5.30% para los suelos enmendados con F-Sh (Tabla 10). De acuerdo con este incremento, los valores de los coeficientes de distribución (K_d) obtenidos para los fungicidas (Tabla 8) por los suelos enmendados aumentaron para todos los compuestos y para todos los suelos como se muestra en la Figura 20.

Tabla 10. Contenido en carbono orgánico de los suelos no enmendados y enmendados con los residuos orgánicos

Suelo	Carbono orgánico (%)		
	Suelo no enmendado	Suelo+C-Ic10	Suelo+F-Sh10
S1	1.95	4.65	5.09
S2	0.44	4.25	4.59
S3	0.63	3.96	3.50
S4	0.31	3.62	3.25
S5	0.09	3.26	3.38
S6	0.33	3.65	4.38
S7	0.26	3.59	3.75
Al	0.59	3.81	3.90
SA	1.01	4.81	4.95
V	1.47	4.54	5.30

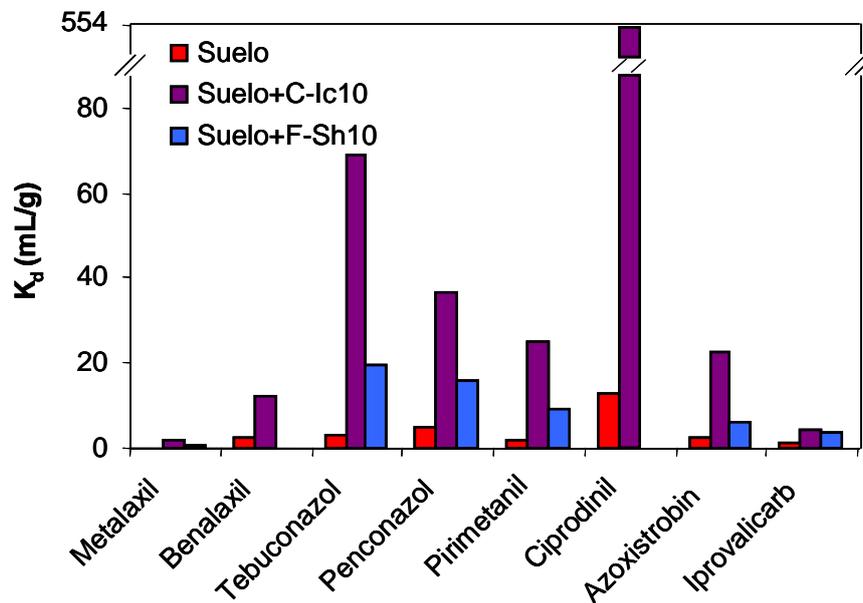


Figura 20. Valores medios de K_d de los fungicidas estudiados en los suelos sin enmendar y enmendados con el residuo orgánico compostado (C-Ic) y sin compostar (F-Sh)

Cabe señalar que la variabilidad de los coeficientes de adsorción de los fungicidas por los suelos sin enmendar, expresada por los respectivos coeficientes de variación (CV), fue más elevada que por los suelos enmendados, debido posiblemente a la mayor variabilidad de las propiedades fisicoquímicas de los suelos sin enmendar y a la influencia del residuo orgánico en este proceso, independiente de otras propiedades del suelo. Los valores medios de K_d aumentaron en los suelos enmendados hasta 5.64, 4.78, 21.3, 7.47, 13.2, 43.6, 8.33 y 3.02 veces para los fungicidas metalaxil, benalaxil, tebuconazol, penconazol, pirimetanil, ciprodinil, azoxistrobin e iprovalicarb, respectivamente (Figura 20). El aumento fue mayor para los suelos enmendados con el residuo C-Ic que para los suelos enmendados con el residuo F-Sh, lo cual puede ser debido a la diferente naturaleza de ambos residuos, ya que el aumento en el contenido en CO de los suelos fue similar.

3.2.2. Adsorción-desorción de fungicidas por suelos: Influencia de la dosis de residuo y del tiempo de incubación suelo-residuos

Se obtuvieron las isotermas de adsorción-desorción de los fungicidas metalaxil, penconazol, pirimetanil e iprovalicarb por el suelo Al seleccionado, después de 0, 6 y 12 meses de tratamiento con los residuos indicados en el Apartado 3.2.1., C-Ic y F-Sh, a las dosis del 2% y 10% en peso. Las isotermas obtenidas incluidas en las Figuras 21-23 se ajustaron a la ecuación de adsorción de Freundlich, ya indicada en la Introducción de esta Memoria, con un coeficiente de correlación $r \geq 0.98$ ($p < 0.01$) para la adsorción y $r \geq 0.87$ ($p < 0.05$) para la desorción. Los valores de los parámetros K_f , n_f y K_{fd} , n_{fd} , determinados a partir de la forma lineal de esa ecuación, se incluyen en las Tablas 11 y 15.

Adsorción de los fungicidas por los suelos no incubados (T0)

Las isotermas de adsorción de los fungicidas estudiados por el suelo Al sin enmendar y enmendado con los SMS, inmediatamente después de su incorporación al suelo (T0) son, en general, de tipo L (no lineales) próximas al tipo C (Giles y col., 1960) (Figura 21). Según lo indicado por distintos autores, las isotermas no lineales se obtienen cuando diversos mecanismos de adsorción se establecen entre los compuestos orgánicos y los diversos componentes del suelo y/o los residuos o cuando interacciones específicas están implicadas en la adsorción de los pesticidas por los suelos (Chiou y col., 2000). También se ha encontrado este tipo de isotermas en la adsorción de otros pesticidas tipo triazinas (Delgado-Moreno y col., 2007a; Singh, 2009), organofosforados (Sakellarides y Albanis, 2000), fenil ureas (Haouari y col., 2006), fenoxiácidos (Piccolo y col., 1995), carbamatos (Bansal, 2004), etc., y en pesticidas con grupos similares en su molécula a los de los fungicidas aquí estudiados (triazol, imidazol, con grupos polares, anilino pirimidinas) (Rütters y col., 1999; Singh, 2005; Baglieri y col., 2009).

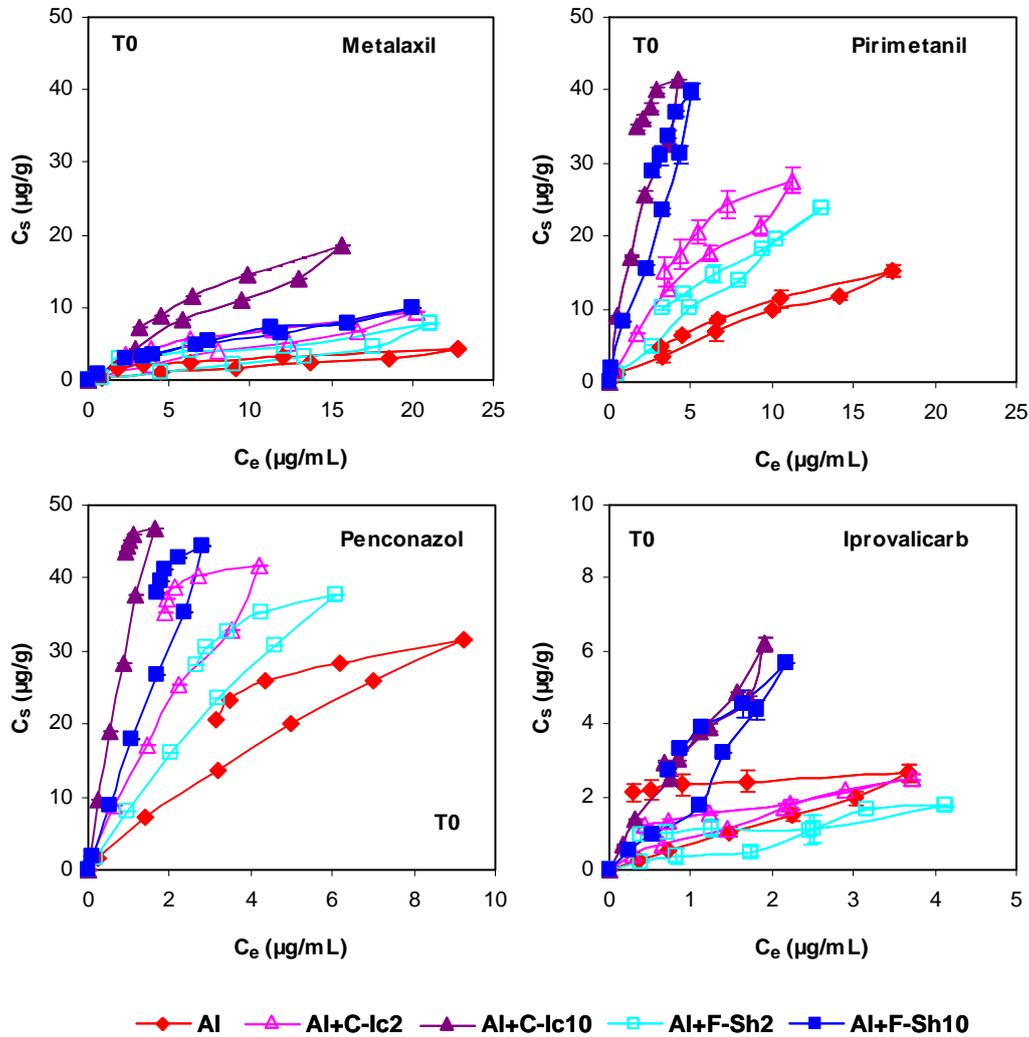


Figura 21. Isothermas de adsorción-desorción de los fungicidas estudiados por el suelo Al sin enmendar y enmendado con los residuos orgánicos (C-Ic y F-Sh) a la dosis del 2% y 10% en peso y a tiempo 0 de incubación (T_0). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Tabla 11. Constantes de Freundlich (K_f y n_f) para la adsorción de los fungicidas estudiados por el suelo AI no enmendado y enmendado con los residuos orgánicos (C-Ic y F-Sh) a la dosis del 2% y 10% en peso, después de 0, 6 y 12 meses de tratamiento

Fungicida Suelo	T0		T6		T12	
	$K_f \pm SD^a$	$n_f \pm SD$	$K_f \pm SD$	$n_f \pm SD$	$K_f \pm SD$	$n_f \pm SD$
Metalaxil						
AI	0.24±0.01	0.89±0.01	0.27±0.01	0.89±0.00	0.23±0.00	0.95±0.01
AI+C-Ic2	0.55±0.02	0.92±0.02	0.50±0.02	0.89±0.02	0.52±0.02	0.89±0.04
AI+C-Ic10	1.56±0.01	0.89±0.01	1.52±0.01	0.86±0.00	1.21±0.02	0.89±0.01
AI+F-Sh2	0.23±0.02	1.06±0.04	0.29±0.01	0.94±0.03	0.30±0.01	0.91±0.00
AI+F-Sh10	0.96±0.07	0.81±0.01	0.58±0.01	0.88±0.01	0.59±0.02	0.87±0.00
Penconazol						
AI	5.17±0.07	0.83±0.01	4.88±0.03	0.83±0.01	4.67±0.03	0.82±0.01
AI+C-Ic2	12.1±0.39	0.87±0.02	8.74±0.02	0.85±0.00	10.1±0.04	0.84±0.01
AI+C-Ic10	31.8±0.05	0.89±0.01	26.6±0.64	0.87±0.01	23.5±0.00	0.86±0.00
AI+F-Sh2	7.83±0.21	0.92±0.00	6.41±0.14	0.87±0.02	6.43±0.03	0.86±0.01
AI+F-Sh10	16.3±0.00	0.96±0.02	11.5±0.13	0.90±0.00	10.9±0.18	0.92±0.01
Pirimetaniil						
AI	1.70±0.26	0.74±0.04	1.71±0.32	0.85±0.07	1.81±0.00	0.80±0.00
AI+C-Ic2	3.83±0.10	0.83±0.04	3.42±0.09	0.90±0.02	3.74±0.22	0.86±0.06
AI+C-Ic10	12.6±0.53	0.85±0.05	10.4±0.33	0.90±0.00	10.2±0.19	0.85±0.00
AI+F-Sh2	2.20±0.42	0.92±0.09	2.14±0.06	0.90±0.03	2.25±0.05	0.84±0.00
AI+F-Sh10	9.19±0.58	0.82±0.04	4.18±0.03	0.94±0.01	3.66±0.08	0.89±0.01
Iprovalicarb						
AI	0.72±0.15	0.95±0.01	0.56±0.09	0.86±0.18	0.68±0.03	1.03±0.04
AI+C-Ic2	0.97±0.05	0.72±0.06	0.48±0.00	0.88±0.01	1.20±0.02	1.07±0.07
AI+C-Ic10	3.41±0.01	0.87±0.03	3.24±0.03	0.91±0.02	2.45±0.02	0.94±0.01
AI+F-Sh2	0.44±0.13	0.95±0.19	0.64±0.03	0.99±0.06	0.19±0.02	0.83±0.08
AI+F-Sh10	2.16±0.15	1.05±0.18	0.86±0.03	1.00±0.03	1.03±0.02	1.02±0.02

^a SD, desviación estándar del valor medio de K_f

Los valores de n_f variaron entre 0.74-0.95 para la adsorción de los fungicidas por el suelo sin enmendar y aumentaron, en general, para la adsorción de los fungicidas por el suelo enmendado con los dos residuos, oscilando entre 0.81-1.06 (metalaxil), 0.87-0.96 (penconazol), 0.83-0.92 (pirimetaniil) y 0.72-1.05 (iprovalicarb), indicando un incremento en la linealidad de las isotermas al aumentar el contenido en CO de los suelos tras la adición de los residuos. Esta

modificación de la linealidad pone de manifiesto que el comportamiento de los residuos incorporados en el suelo respecto a la adsorción de los fungicidas no es completamente similar al de los residuos aislados, que presentaban isothermas no lineales. Los valores de n_f variaron en rangos similares para la adsorción de los fungicidas por el suelo sin enmendar y enmendado después de diferentes tiempos de incubación aunque, en general, siempre se mantuvieron en valores < 1 .

Las constantes de adsorción K_f obtenidas para la adsorción de los fungicidas por el suelo sin enmendar variaron entre 0.24 y 5.17 siguiendo el orden metalaxil $<$ iprovalicarb $<$ pirimetanil $<$ penconazol. De acuerdo con los valores de K_{ow} de los fungicidas, la adsorción aumentaría con su carácter hidrofóbico excepto para el iprovalicarb, que tiene una adsorción más baja respecto a la que le correspondería de acuerdo con su valor de K_{ow} . La adsorción de los fungicidas por los suelos enmendados aumentó siguiendo el mismo orden de adsorción que el indicado para el suelo sin enmendar (Tabla 11).

Con el fin de comparar la capacidad de adsorción de los fungicidas por los suelos enmendados, y su variabilidad con el tiempo de incubación, se determinaron también, a partir de las isothermas de adsorción, los coeficientes de distribución K_d a una concentración de equilibrio promedio en el rango de concentración utilizado para la adsorción ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para metalaxil, penconazol y pirimetanil, y $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ para iprovalicarb), dado que los valores de n_f fueron diferentes de 1. Los valores de K_d obtenidos (Tabla 12) para el suelo sin enmendar variaron en el margen 0.20-3.95, siguiendo el mismo orden de adsorción que los valores de K_f indicados anteriormente. Estos valores aumentaron, en mayor o menor medida, para la adsorción de todos los fungicidas por los suelos enmendados, siendo mayor el aumento para los suelos enmendados con la dosis más elevada de residuo. Así, el aumento de adsorción por los suelos Al+C-Ic sin incubación (T0) es de 2.45-6.50 veces para metalaxil, 2.47-6.71 veces para penconazol, 2.61-8.82 veces para pirimetanil y 1.14-4.52 veces para iprovalicarb, mientras que para los suelos Al+F-Sh el aumento fue 1.25-3.50 veces para metalaxil, 1.73-3.85 veces para penconazol, 1.72-6.15 veces para pirimetanil y hasta 3.23 veces para iprovalicarb.

Los valores de K_d de los fungicidas por el suelo enmendado con el residuo C-Ic fueron siempre más elevados que por el suelo enmendado con el residuo F-Sh, a pesar de que el contenido de CO del suelo Al+F-Sh es ligeramente superior al del suelo Al+C-Ic (Tabla 13) y debería favorecer el aumento de adsorción, como sugiere la correlación significativa encontrada e indicada anteriormente entre la adsorción de los fungicidas y el CO de los suelos de viñedo.

Sin embargo, aunque el contenido de CO en el suelo Al+C-Ic es más bajo que en el suelo Al+F-Sh, su capacidad adsorbente debe ser más elevada debido a su mayor grado de humificación, indicado por la relación AH/AF, y al menor contenido en COD (Tabla 13). Estas características de los suelos enmendados estarían relacionadas con las de los residuos aplicados C-Ic y F-Sh (Tabla 1).

Tabla 12. Coeficientes de distribución K_d (mL g^{-1}) de los fungicidas en los suelos sin enmendar y enmendados, incubados durante 0, 6 y 12 meses y estos coeficientes normalizados respecto al contenido en carbono orgánico (K_{CO})

Fungicida Suelo	T0		T6		T12	
	$K_d \pm SD^a$	K_{CO}	$K_d \pm SD^b$	K_{CO}	$K_d \pm SD^c$	K_{CO}
Metalaxil						
Al	0.20±0.01	37.0	0.23±0.00*	43.4	0.22±0.00	37.9
Al+C-Ic2	0.49±0.00	38.3	0.42±0.01*	38.2	0.43±0.01*	36.4
Al+C-Ic10	1.30±0.01	34.1	1.22±0.00*	39.4	1.02±0.00*	32.7
Al+F-Sh2	0.25±0.00	17.5	0.26±0.01	28.9	0.26±0.01	27.4
Al+F-Sh10	0.70±0.00	17.7	0.48±0.01*	24.6	0.48±0.01*	27.0
Media		28.9		34.9		32.3
CV (%)		36.2		22.4		15.6
Penconazol						
Al	3.95±0.10	731	3.73±0.07	703	3.48±0.04*	600
Al+C-Ic2	9.77±0.07	763	6.88±0.06*	625	7.80±0.13*	661
Al+C-Ic10	26.5±0.45	695	21.6±0.71*	696	18.7±0.04*	599
Al+F-Sh2	6.83±0.21	477	5.20±0.27*	577	5.10±0.09*	536
Al+F-Sh10	15.2±0.38	383	9.80±0.08*	502	9.47±0.08*	532
Media		610		621		585
CV (%)		27.7		13.6		9.1
Pirimetanil						
Al	1.12±0.10	207	1.39±0.07	262	1.32±0.01	227
Al+C-Ic2	2.92±0.26	228	2.89±0.16	262	2.99±0.09	253
Al+C-Ic10	9.88±0.39	259	8.84±0.25*	285	8.02±0.17*	257
Al+F-Sh2	1.93±0.10	135	1.83±0.03	203	1.73±0.04	182
Al+F-Sh10	6.89±0.91	174	3.78±0.08*	193	3.07±0.04*	172
Media		200		241		218
CV (%)		24.0		16.7		18.1
Iprovalicarb						
Al	0.69±0.01	127.8	0.51±0.01	96.2	0.70±0.01	120
Al+C-Ic2	0.79±0.01	61.7	0.44±0.00*	40.0	1.26±0.04*	106
Al+C-Ic10	3.12±0.07	81.9	3.05±0.01	98.4	2.34±0.01*	75.0
Al+F-Sh2	0.43±0.06	30.1	0.64±0.01*	71.1	0.17±0.06*	17.9
Al+F-Sh10	2.23±0.27	56.3	0.85±0.01*	43.6	1.05±0.04*	59.0
Media		71.6		69.9		75.9
CV (%)		51.0		39.8		53.6

^a SD, desviación estándar; ^{b,c} valores marcados con un asterisco indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre suelos sin incubar e incubados 6 meses o entre suelos sin incubar e incubados 12 meses

Tabla 13. Características de los suelos sin enmendar y enmendados (pH, carbono orgánico (CO), carbono orgánico soluble (COD) y contenidos en ácidos húmicos (AH) y fúlvicos (AF)) después de 0, 6 y 12 meses de tratamiento

Suelo	pH	CO (%)	COD (mg g ⁻¹)	AH (mg g ⁻¹)	AF (mg g ⁻¹)	AH/AF
T0						
Al	7.87	0.59	0.046	0.432	0.563	0.767
Al+C-Ic2	7.73	1.28	0.193	0.670	0.754	0.888
Al+C-Ic10	7.44	3.81	0.817	2.079	1.872	1.110
Al+F-Sh2	7.26	1.43	1.120	0.764	2.170	0.352
Al+F-Sh10	6.04	3.96	10.47	2.662	9.562	0.278
T6						
Al	7.89	0.53	0.045	-	-	-
Al+C-Ic2	7.70	1.1	0.204	-	-	-
Al+C-Ic10	7.41	3.10	0.425	-	-	-
Al+F-Sh2	7.64	0.9	0.119	-	-	-
Al+F-Sh10	7.70	1.95	1.007	-	-	-
T12						
Al	7.84	0.58	0.036	0.357	0.621	0.575
Al+C-Ic2	7.65	1.18	0.079	0.717	0.758	0.946
Al+C-Ic10	7.47	3.12	0.364	2.439	1.631	1.495
Al+F-Sh2	7.88	0.95	0.158	0.526	0.977	0.538
Al+F-Sh10	7.90	1.78	0.706	2.069	2.841	0.728

En relación con la influencia del COD en la adsorción de los fungicidas por los suelos enmendados, cabe señalar que los resultados encontrados en la bibliografía han puesto de manifiesto que un aumento o una disminución en la adsorción de pesticidas y/o compuestos orgánicos hidrofóbicos por suelos puede tener lugar en presencia de COD (Cox y col., 2007; Song y col., 2008; Delgado-Moreno y col., 2010). Un aumento de la adsorción podría ocurrir si los compuestos orgánicos solubles son adsorbidos por los componentes del suelo, especialmente arcillas, dando lugar a la formación de nuevas superficies hidrofóbicas que permitirían obtener un aumento de adsorción de los pesticidas (Barriuso y col., 1992b; Andrades y col., 2004; Cox y col., 2004). Mientras que una disminución de la adsorción sería posible si se establece una interacción del fungicida con los compuestos orgánicos solubles en la interfase suelo-solución (Müller y col.,

2007) o bien, por la competencia de las moléculas de fungicida con las moléculas orgánicas solubles por los lugares de adsorción del adsorbente (Fernandes y col., 2006; Cox y col., 2007; Briceño y col., 2008).

En este sentido, los resultados obtenidos en este trabajo indicaron una disminución de la adsorción por los suelos con mayor contenido en COD posiblemente originada por alguno de los procesos señalados anteriormente. Aunque no se encontró una correlación significativa entre los coeficientes de adsorción K_d y el contenido en COD de los suelos, sí fue significativa la correlación múltiple establecida entre los coeficientes de adsorción de los fungicidas y los contenidos en CO y COD considerados simultáneamente. Esta correlación puso de manifiesto la influencia positiva del CO y negativa del COD de los suelos enmendados en la adsorción de todos los fungicidas por los suelos determinada por el método *batch* en el equilibrio. Los coeficientes de determinación R^2 de la correlación múltiple obtenida indicaron que más del 90% de la variabilidad de la adsorción podía ser explicada por los contenidos en CO y COD para todos los fungicidas (penconazol > pirimetanil > metalaxil > iprovalicarb), como se indica en la Tabla 14.

Tabla 14. Ecuaciones de regresión múltiple entre los coeficientes de adsorción K_d de los fungicidas y los contenidos en CO y COD de los suelos

Fungicida	Ecuación de regresión	Nivel de significación		R^2
		CO	COD	
Metalaxil	$K_d = -0.042 + 0.365 \text{ CO} - 0.068 \text{ COD}$	0.020	0.066	96.0
Penconazol	$K_d = -0.391 + 7.322 \text{ CO} - 1.296 \text{ COD}$	0.007	0.027	98.6
Pirimetanil	$K_d = -0.897 + 2.877 \text{ CO} - 0.353 \text{ COD}$	0.011	0.082	98.1
Iprovalicarb	$K_d = -0.204 + 0.866 \text{ CO} - 0.099 \text{ COD}$	0.049	0.293	91.0

Adsorción de los fungicidas por los suelos incubados durante diferentes períodos de tiempo

Se obtuvieron las isotermas de adsorción de los fungicidas por los suelos sin enmendar y enmendados, después de 6 (T6) y 12 (T12) meses de tratamiento del suelo con los residuos (Figuras 22 y 23), con el fin de conocer la influencia del tiempo de incubación en la adsorción de los fungicidas por los suelos enmendados, teniendo en cuenta que la adsorción puede disminuir, si el CO disminuye por mineralización, o puede aumentar, si el CO evoluciona a formas más estables por humificación durante el tiempo de tratamiento del suelo con los residuos (Rodríguez-Cruz y col., 2011b). Se determinaron los parámetros de adsorción K_f y n_f (Tabla 11),

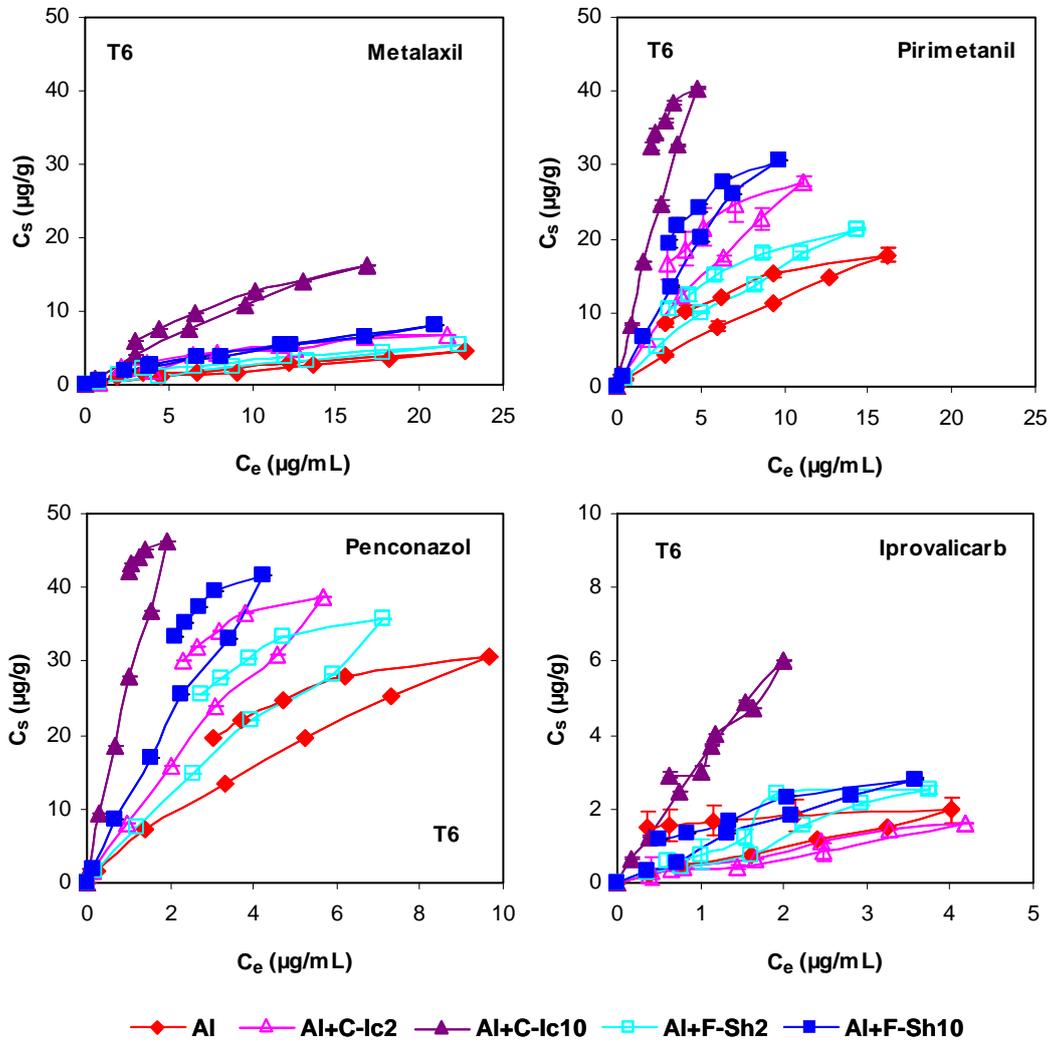


Figura 22. Isothermas de adsorción-desorción de los fungicidas estudiados por el suelo Al sin enmendar y enmendado con los residuos orgánicos (C-Ic y F-Sh) a la dosis del 2% y 10% en peso, después de 6 meses de tratamiento del suelo con los residuos (T6).

Las barras de error representan la desviación estándar de la media

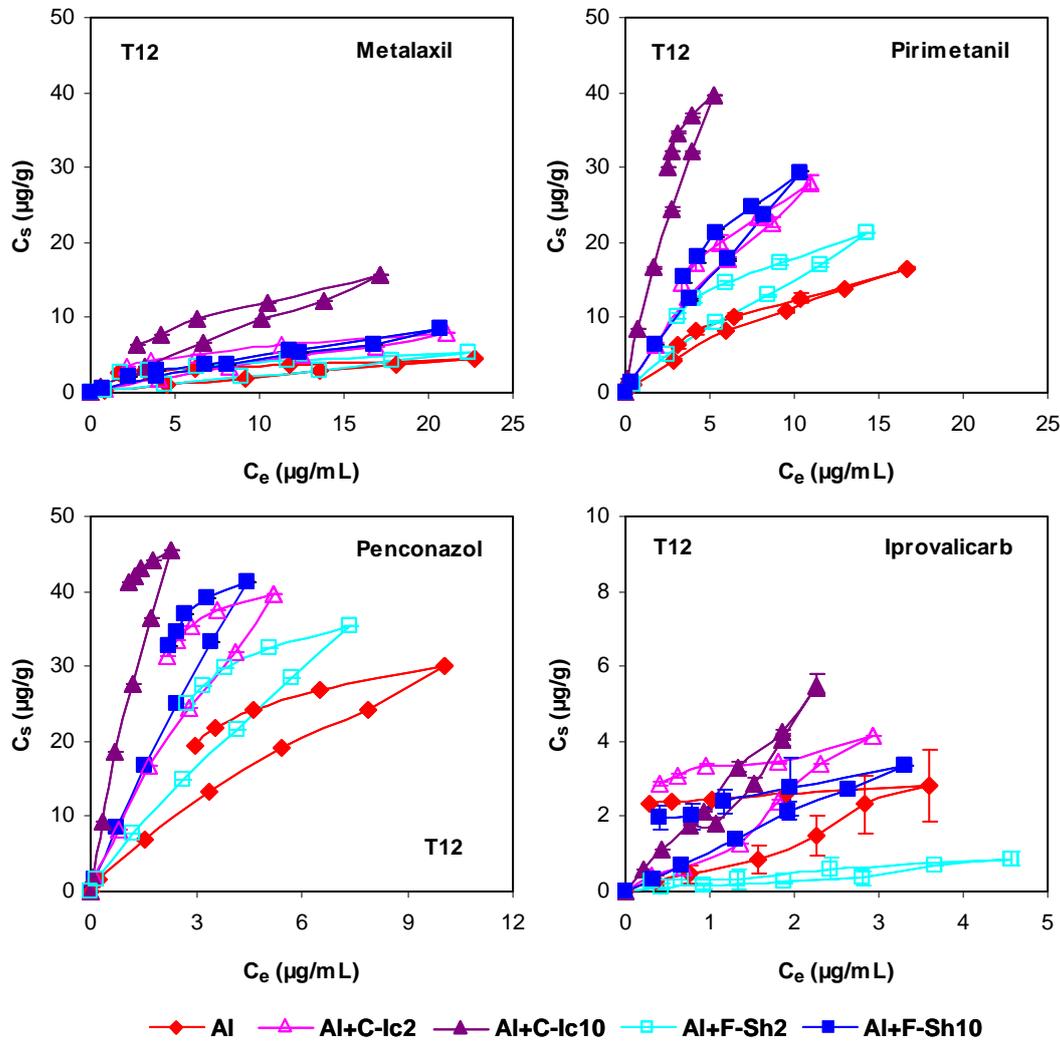


Figura 23. Isothermas de adsorción-desorción de los fungicidas estudiados por el suelo AI sin enmendar y enmendado con los residuos orgánicos (C-Ic y F-Sh) a la dosis del 2% y 10% en peso, después de 12 meses de tratamiento del suelo con los residuos (T12). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

los coeficientes de distribución K_d de los fungicidas (Tabla 12) y la evolución de los parámetros pH, CO, COD, AH y AF de los suelos enmendados con el tiempo de incubación suelo-residuos (Tabla 13).

Se observó una disminución significativa del contenido en CO y COD de los suelos enmendados e incubados durante 12 meses, para el suelo Al+C-Ic en un porcentaje entre 8%-18% para el CO y entre 55%-59% para el COD, mientras que para el suelo Al+F-Sh, estos porcentajes variaron entre 34%-55% (CO) y entre 86%-93% (COD). También se observó para este suelo un aumento del pH paralelo a la elevada disminución del CO, como era de esperar teniendo en cuenta el bajo pH del residuo F-Sh (4.5), alcanzando valores de pH próximos a los del suelo sin enmendar. Sin embargo, el CO residual de los suelos enmendados llegó a estar más estabilizado con el tiempo de incubación, como pone de manifiesto el aumento del contenido de AH y de la relación AH/AF (1-1.3 veces para el suelo Al+C-Ic y 1.5-2.6 veces para el suelo Al+F-Sh), tomada como un indicador del grado de humificación del CO de los suelos enmendados. La evolución de estos parámetros de los suelos enmendados (CO y COD) se produjo principalmente en los primeros 6 meses de incubación, siendo menores los cambios registrados hasta el final del período total de incubación de 12 meses.

Los valores de K_f obtenidos siguieron el mismo orden que los obtenidos inicialmente a T0 para los fungicidas y para los suelos. En el suelo sin enmendar, los valores de K_d a los diferentes tiempos de incubación no fueron, en general, significativamente diferentes, mientras que en los suelos enmendados disminuyeron, en general. Los valores de K_d para penconazol fueron significativamente diferentes para todos los suelos, disminuyendo hasta 1.55 y 1.61 veces después de 6 y 12 meses de tratamiento del suelo con los residuos, respectivamente. Los valores de K_d disminuyeron hasta 1.46 veces para metalaxil, y hasta 1.82 y 2.24 veces para pirimetanil, aunque la disminución no fue significativa para los suelos enmendados con la dosis más baja de residuo con menor contenido en CO (Al+Ic2 y Al+Sh2). Los valores de K_d para iprovalicarb disminuyeron hasta 2.62 y 2.53 veces, aunque el comportamiento de este fungicida fue más irregular, aumentando en algunos casos la adsorción (Tablas 11 y 12).

Para todos los fungicidas la mayor disminución correspondió al suelo enmendado con el residuo F-Sh10, que es también el suelo que presenta la disminución más elevada del contenido en CO. Sin embargo, en este suelo se encontró el aumento más acusado en el grado de humificación del CO residual (casi 3 veces), lo que pone de manifiesto que la disminución del contenido en CO de los suelos enmendados llegó a ser más relevante para la adsorción de los fungicidas estudiados que los cambios en su naturaleza o estructura, a pesar de que después de 12 meses de tratamiento del suelo con los residuos se encontró una relación significativa entre los coeficientes K_d y los índices AH/AF de los suelos ($r > 0.97$, $p < 0.05$ para metalaxil; $r > 0.95$, $p < 0.05$ para penconazol, $r > 0.97$, $p < 0.05$ para pirimetanil y $r > 0.96$, $p < 0.05$ para iprovalicarb).

De acuerdo con lo anterior están los coeficientes de correlación (r) significativos encontrados para las regresiones lineales entre los coeficientes K_d y el contenido en CO de los suelos para todos los fungicidas, que variaron entre 0.91 y 0.97 ($p < 0.05$) para los suelos incubados 6 meses (T6) y entre 0.88 y 0.99 ($p < 0.05$) para los suelos incubados 12 meses (T12) (Figura 24).

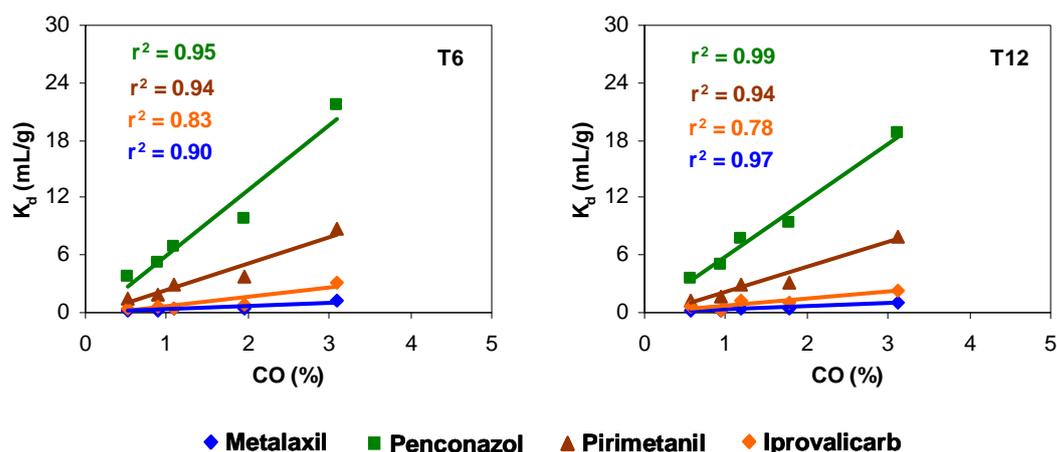


Figura 24. Regresiones lineales entre los coeficientes de distribución K_d de los fungicidas y el contenido en CO de los suelos después de 6 (T6) y 12 (T12) meses de tratamiento del suelo con los residuos

También se han observado disminuciones de la adsorción de triazinas al aumentar el tiempo de incubación (hasta 3 meses) de suelos enmendados con alperujo (Delgado-Moreno y col., 2007b), aunque los mismos autores no vieron modificaciones de la adsorción cuando los suelos fueron enmendados con la misma enmienda compostada, posiblemente debido al corto tiempo de incubación de los suelos. Fernández-Bayo y col. (2009) tampoco encontraron una disminución de la adsorción de diurón por suelos enmendados durante 6 semanas con la enmienda de alperujo vermicompostada, aunque sí observaron una disminución de la adsorción del herbicida por suelos enmendados con residuos generados en la producción del vino vermicompostados, a pesar de que no hubo una reducción significativa del contenido de CO en ninguna de las muestras incubadas. En relación con los fungicidas estudiados en este trabajo, Cox y col. (2004), y Fernandes y col. (2006) observaron que la incubación de suelos con enmiendas orgánicas afectó de distinta manera a la adsorción del metalaxil, dependiendo del tipo de suelo y de la naturaleza del COD aportado con la enmienda orgánica. Así, el envejecimiento del COD procedente de la enmienda sólida no modificó la adsorción de metalaxil después de 2 meses de tratamiento, mientras que el envejecimiento del COD procedente de enmiendas líquidas originó un incremento en el valor de K_d del metalaxil con el

tiempo de incubación, poniendo de manifiesto la importancia de la MO en el envejecimiento de pesticidas en el suelo y/o la mayor accesibilidad de estos con el tiempo a lugares menos accesibles de la MO.

Los coeficientes de adsorción normalizados respecto al contenido en CO (K_{CO}) de los suelos, junto con los valores medios y los coeficientes de variación (CV) de los mismos se incluyen en la Tabla 12. Los valores de K_{CO} fueron inicialmente diferentes para los suelos enmendados, de acuerdo con el rango de variación de los CV encontrado (24%-51%), indicando la influencia de la naturaleza del CO de los residuos en la adsorción de los fungicidas estudiados. Sin embargo, la variabilidad de K_{CO} disminuyó al aumentar el tiempo de incubación de los suelos con los residuos (excepto para iprovalicarb), especialmente para los suelos enmendados con el F-Sh. Esto pone de manifiesto de nuevo la influencia del contenido en CO de los suelos enmendados ya que su naturaleza llegó a ser más similar después de la evolución/estabilización del CO de los mismos que tiene lugar tras el período de incubación de 12 meses del suelo con los residuos. Este efecto se observó en mayor medida para la adsorción de metalaxil, penconazol y pirimetanil (fungicidas con valores de K_{ow} entre 1.75 y 3.72) y en menor medida para el iprovalicarb ($K_{ow}= 3.20$). Otros factores, además del CO, deben influir también en la adsorción de este fungicida por los suelos enmendados, a pesar de su carácter ligeramente hidrofóbico.

Desorción de los fungicidas en los suelos

Las isothermas de desorción de los fungicidas se obtuvieron a partir de las correspondientes isothermas de adsorción a la concentración inicial de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ para metalaxil, penconazol y pirimetanil, y a la concentración inicial de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para iprovalicarb. Las isothermas obtenidas incluidas en las Figuras 21-23 muestran histéresis en mayor o menor grado, ya que los datos de desorción no coinciden con los de la isoterma de adsorción. Los valores de K_{fd} y n_{fd} obtenidos junto con los coeficientes de histéresis H se incluyen en la Tabla 15.

Los coeficientes de histéresis (H) ($H=n_f/n_{fd}$) obtenidos para los fungicidas estudiados fueron siempre >1 desde el suelo sin enmendar y enmendado, excepto para la desorción de iprovalicarb desde el suelo Al+C-Ic10 después de 12 meses de incubación, lo que indica que los valores de K_{fd} obtenidos fueron, en general, mayores que los valores de K_f y que el proceso de desorción no fue totalmente reversible. Los valores de H obtenidos para las isothermas de desorción desde el suelo Al sin enmendar variaron entre 1.10 y 10.1, correspondiendo los valores más elevados al metalaxil e iprovalicarb. Los valores de H fueron más elevados para la desorción de los fungicidas penconazol (2.66-8.18) y pirimetanil (1.51-4.40) desde los suelos enmendados que desde los suelos sin enmendar, siendo mayor el aumento para el suelo enmendado con C-Ic y para el suelo enmendado con la dosis más alta para los dos residuos. Sin embargo, la histéresis de las isothermas de desorción de metalaxil (1.44-2.93) e iprovalicarb (1.32-4.39) desde los suelos

Tabla 15. Constantes de Freundlich (K_{fd} y n_{fd}) para la desorción y coeficientes de histéresis (H) de los fungicidas estudiados por el suelo AI no enmendado y enmendado con los residuos orgánicos (C-Ic y F-Sh) a la dosis del 2% y 10% en peso después de 0, 6 y 12 meses de tratamiento

Fungicida	T0			T6			T12		
	$K_{fd} \pm SD$	$n_{fd} \pm SD$	$H \pm SD$	$K_{fd} \pm SD$	$n_{fd} \pm SD$	$H \pm SD$	$K_{fd} \pm SD$	$n_{fd} \pm SD$	$H \pm SD$
Metalaxil									
AI	1.34±0.15	0.36±0.04	2.45±0.22	0.71±0.03	0.57±0.03	1.56±0.07	2.28±0.34	0.21±0.06	4.59±1.27
AI+C-Ic2	2.40±0.24	0.45±0.03	2.04±0.19	1.80±0.39	0.43±0.06	2.07±0.36	2.64±0.15	0.36±0.00	2.47±0.09
AL+C-Ic10	3.70±0.08	0.60±0.01	1.49±0.02	3.18±0.15	0.59±0.01	1.47±0.02	3.97±0.52	0.48±0.04	1.87±0.19
AL+F-Sh2	2.19±0.24	0.36±0.02	2.93±0.30	1.00±0.08	0.53±0.01	1.78±0.10	2.03±0.03	0.30±0.00	3.05±0.04
AL+F-Sh10	1.70±0.01	0.56±0.03	1.44±0.07	1.12±0.11	0.65±0.05	1.36±0.09	1.26±0.32	0.61±0.00	1.42±0.19
Penconazol									
AI	14.4±1.71	0.36±0.04	2.28±0.26	13.2±0.47	0.39±0.01	2.15±0.08	13.8±0.27	0.35±0.01	2.35±0.07
AI+C-Ic2	32.9±2.63	0.17±0.05	4.99±1.47	24.4±1.04	0.28±0.01	3.05±0.08	26.6±0.19	0.25±0.01	3.33±0.07
AL+C-Ic10	44.7±0.03	0.11±0.01	8.18±0.62	42.7±0.19	0.13±0.01	6.75±0.48	40.8±0.20	0.14±0.01	6.31±0.46
AL+F-Sh2	20.8±0.39	0.35±0.02	2.66±0.16	18.3±1.68	0.36±0.02	2.42±0.20	18.3±0.31	0.34±0.01	2.51±0.04
AL+F-Sh10	33.6±0.77	0.28±0.05	3.39±0.58	27.1±1.52	0.31±0.01	2.90±0.30	25.9±0.53	0.33±0.02	2.82±0.15
Pirimetanil									
AI	2.31±0.35	0.67±0.05	1.10±0.03	5.48±1.25	0.44±0.10	1.94±0.41	3.56±0.24	0.55±0.01	1.46±0.04
AI+C-Ic2	8.38±1.52	0.51±0.04	1.62±0.19	11.0±2.98	0.40±0.08	2.25±0.53	7.95±0.86	0.53±0.03	1.63±0.19
AL+C-Ic10	31.7±1.11	0.19±0.02	4.40±0.02	27.4±1.93	0.26±0.05	3.49±0.67	22.3±0.18	0.36±0.01	2.37±0.06
AL+F-Sh2	4.86±0.15	0.61±0.00	1.51±0.15	6.32±1.11	0.47±0.06	1.90±0.34	6.22±0.35	0.47±0.02	1.79±0.07
AL+F-Sh10	17.4±1.22	0.52±0.09	1.58±0.09	12.6±1.09	0.41±0.03	2.32±0.21	7.89±0.75	0.57±0.03	1.57±0.07
Iprovalicarb									
AI	2.34±0.52	0.09±0.00	10.1±1.08	1.67±0.43	0.12±0.05	7.30±1.69	2.51±0.06	0.08±0.00	13.2±0.67
AI+C-Ic2	1.53±0.03	0.32±0.02	2.24±0.02	0.51±0.29	0.64±0.08	1.38±0.38	3.34±0.04	0.15±0.01	7.02±0.22
AL+C-Ic10	3.59±0.05	0.66±0.04	1.32±0.06	3.56±0.14	0.65±0.05	1.41±0.16	2.02±0.04	1.09±0.01	0.86±0.03
AL+F-Sh2	1.10±0.17	0.22±0.01	4.39±1.05	0.91±0.32	0.88±0.05	1.12±0.25	0.39±0.03	0.43±0.03	1.95±0.46
AL+F-Sh10	3.49±0.06	0.61±0.08	1.71±0.36	1.56±0.00	0.47±0.00	2.14±0.07	2.34±0.37	0.27±0.03	3.77±0.47

enmendados fue similar o disminuyó respecto a la encontrada en el suelo sin enmendar. La irreversibilidad de la adsorción de estos dos fungicidas disminuyó al aumentar la dosis de enmienda en el suelo, lo que parece indicar que el residuo orgánico facilita la desorción del compuesto, estando este hecho de acuerdo con los resultados de desorción obtenidos desde los residuos aislados (sin suelo), donde se encontraron coeficientes $H < 1$ para ambos fungicidas desde todos los residuos orgánicos estudiados (Apartado 3.1.2. de esta Memoria).

Los valores de H correspondientes a las isothermas de desorción desde los suelos enmendados después de diferentes tiempos de incubación fueron muy variables, ya que disminuyeron, aumentaron o fueron similares respecto a los obtenidos para las isothermas de desorción desde los suelos sin incubar (T_0). Después de 6 meses de incubación, los efectos más claramente observados son una disminución de H para el penconazol y un aumento de H para el pirimetanil respecto a los valores obtenidos a T_0 , y después de 12 meses de incubación, se observó un aumento de H para metalaxil e iprovalicarb y una disminución para pirimetanil, mientras que no se registraron cambios relevantes para penconazol respecto a los valores obtenidos a T_6 .

Las cantidades desorbidas de cada uno de los fungicidas, después de realizar cuatro procesos de desorción consecutivos, se muestran en la Figura 25. Estas cantidades, expresadas como porcentaje de la cantidad de fungicida adsorbida inicialmente, variaron entre 41.8%-75.8% para metalaxil, 34.9%-35.4% para penconazol, 48.5%-79.1% para pirimetanil y 17.4%-24.5% para iprovalicarb desde los suelos no enmendados disminuyendo generalmente después de 12 meses de incubación del suelo. Desde los suelos enmendados con los residuos y tras diferentes tiempos de incubación, estas cantidades variaron entre 51.4%-76.0% para metalaxil, 6.99%-29.1% para penconazol, 15.8%-57.6% para pirimetanil y 30.5%-79.4% para iprovalicarb.

La influencia de los residuos orgánicos para disminuir la desorción de los fungicidas penconazol y pirimetanil se observó desde los suelos enmendados con los dos residuos y con las dos dosis. El efecto fue mayor para el suelo enmendado con el residuo C-Ic a la dosis del 10% para ambos fungicidas. Sin embargo, el efecto del tiempo de incubación fue variable para el pirimetanil, mientras que para el penconazol la desorción siempre aumentó desde los suelos enmendados al aumentar el tiempo de incubación. La desorción de metalaxil desde los suelos enmendados aumentó o fue similar a la encontrada desde el suelo sin enmendar. También aumentó después de 6 meses de tratamiento del suelo con el residuo F-Sh, pero disminuyó en todos los suelos enmendados después de 12 meses de tratamiento. La desorción de iprovalicarb aumentó en todos los suelos enmendados respecto al suelo sin enmendar y aumentó también después de 6 meses de tratamiento de los suelos, pero disminuyó, en general, al aumentar el tiempo de tratamiento del suelo con los residuos de 6 a 12 meses.

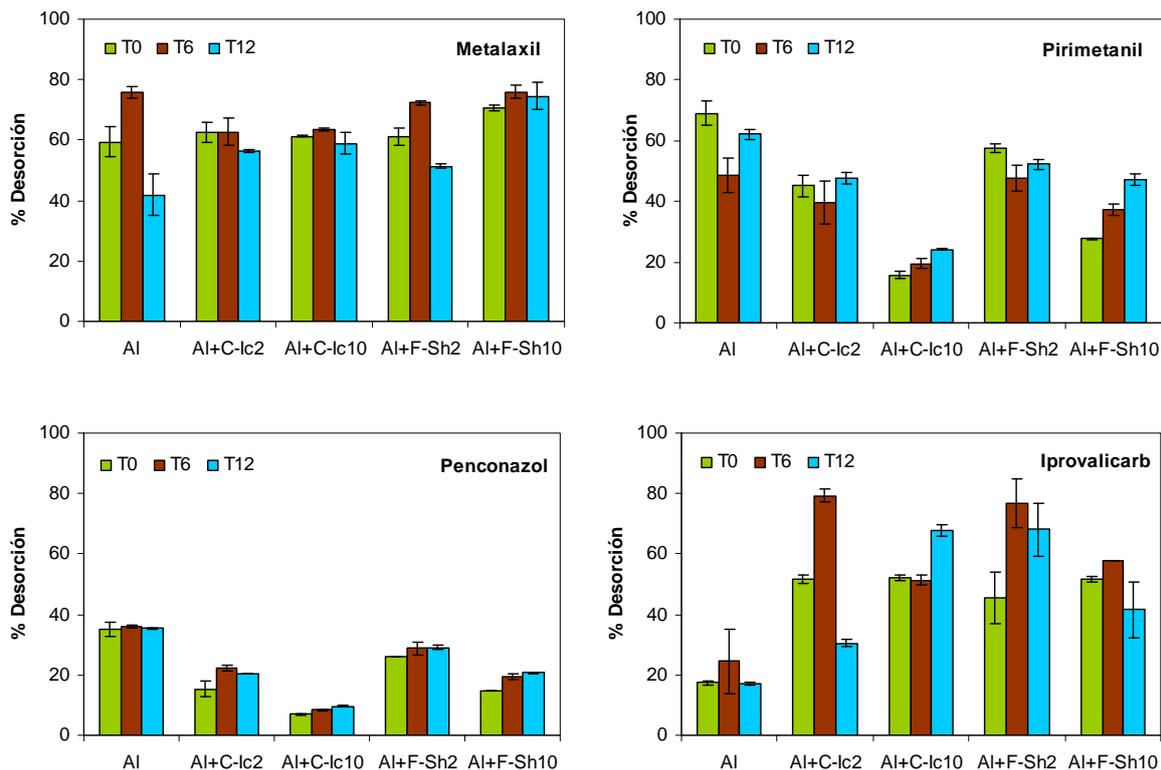


Figura 25. Cantidades desorbidas (%) de los fungicidas desde el suelo AI no enmendado y enmendado con los residuos orgánicos (C-lc y F-Sh) a la dosis del 2% y 10% en peso, después de 0 (T0), 6 (T6) y 12 (T12) meses de tratamiento. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Los resultados indican que el aumento de CO disminuyó la desorción de penconazol y pirimetanil e incrementó la de iprovalicarb desde los suelos. La disminución del CO originado por la incubación del suelo con los residuos dio lugar a una disminución de la adsorción de todos los fungicidas, favoreciendo la desorción de los mismos desde el suelo. Sin embargo, esta disminución del CO favoreció más la reversibilidad de la adsorción de penconazol, pero aumentó en mayor o menor medida la irreversibilidad de la adsorción de los fungicidas menos hidrofóbicos (pirimetanil, metalaxil e iprovalicarb). Este comportamiento diferente está posiblemente relacionado con los diferentes mecanismos de interacción de los fungicidas con los residuos o con los componentes del suelo. Los fungicidas menos hidrofóbicos podrían establecer interacciones específicas a través de los grupos funcionales específicos de la molécula con los componentes orgánicos e inorgánicos del suelo, mientras que el penconazol sería principalmente adsorbido mediante un mecanismo de adsorción hidrofóbico por la MO. Cabe señalar que en ningún caso el porcentaje de desorción llegó al 100% de la cantidad adsorbida inicialmente, lo que pone de manifiesto el interés de la adición de este tipo de enmiendas para favorecer la retención de los fungicidas, incluso después de un período largo de tratamiento.

3.3. ESTUDIO DE LA DISIPACIÓN DE FUNGICIDAS EN SUELOS SIN ENMENDAR Y ENMENDADOS CON LOS RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS

Se estudió la disipación de los fungicidas iprovalicarb, pirimetanil, metalaxil y penconazol en el suelo AI seleccionado sin enmendar y enmendado con los residuos orgánicos para evaluar la persistencia de estos compuestos en los suelos y la posible formación de metabolitos en función del tiempo de incubación de los fungicidas con los suelos. El suelo AI fue enmendado a la dosis del 10% con los dos residuos utilizados en el estudio de la adsorción, uno compostado, procedente del cultivo de *Agaricus* que está comercializado (C-Ic), y otro sin compostar, procedente del cultivo de Shiitake (F-Sh), sin ningún tratamiento adicional a los que habitualmente son sometidos estos residuos después del cultivo de hongos. Las muestras de suelo+fungicida fueron incubadas con un contenido en humedad del 40% de la capacidad de campo del suelo y a $20 \pm 2^\circ\text{C}$ durante distintos períodos de tiempo, dependiendo de la evolución de los residuos de los fungicidas en los suelos. Paralelamente, se estudió el mecanismo de disipación para los fungicidas metalaxil y penconazol utilizando los compuestos marcados en ^{14}C , estableciendo un balance de masa total de los compuestos a partir de los resultados de la cinética de mineralización (producción de $^{14}\text{CO}_2$), la extracción del ^{14}C con un disolvente orgánico y la formación de residuos enlazados mediante combustión final de las muestras. Asimismo, se ha determinado la actividad deshidrogenasa del suelo sin enmendar y enmendado, con y sin fungicida, en función del tiempo, con el fin de establecer la influencia de la enmienda y de los fungicidas sobre la actividad microbiana del suelo.

3.3.1. Cinéticas de disipación y persistencia de los fungicidas en los suelos

Iprovalicarb

Las curvas de disipación de iprovalicarb en el suelo AI sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic o F-Sh se incluyen en la Figura 26, donde se muestran las cantidades de fungicida remanente en el suelo durante el período de incubación, expresadas como porcentajes de la cantidad inicialmente añadida. El estudio se prolongó hasta la disipación, prácticamente total del fungicida, que tuvo lugar después de un período de incubación de 110 días en el suelo sin enmendar y en el suelo AI+F-Sh10, aunque en el suelo AI+C-Ic10 permanecía sin disipar más del 25% del fungicida inicialmente añadido, después de este período de tiempo.

Las curvas de disipación obtenidas (teniendo en cuenta todas las repeticiones) se ajustaron a dos modelos cinéticos descritos en la Introducción de esta Memoria: cinética de primer orden (SFO) y cinética de primer orden multicompartimental (FOMC), calculándose a partir de las ecuaciones correspondientes a cada uno de ellos los parámetros cinéticos de disipación del fungicida que se incluyen en la Tabla 16.

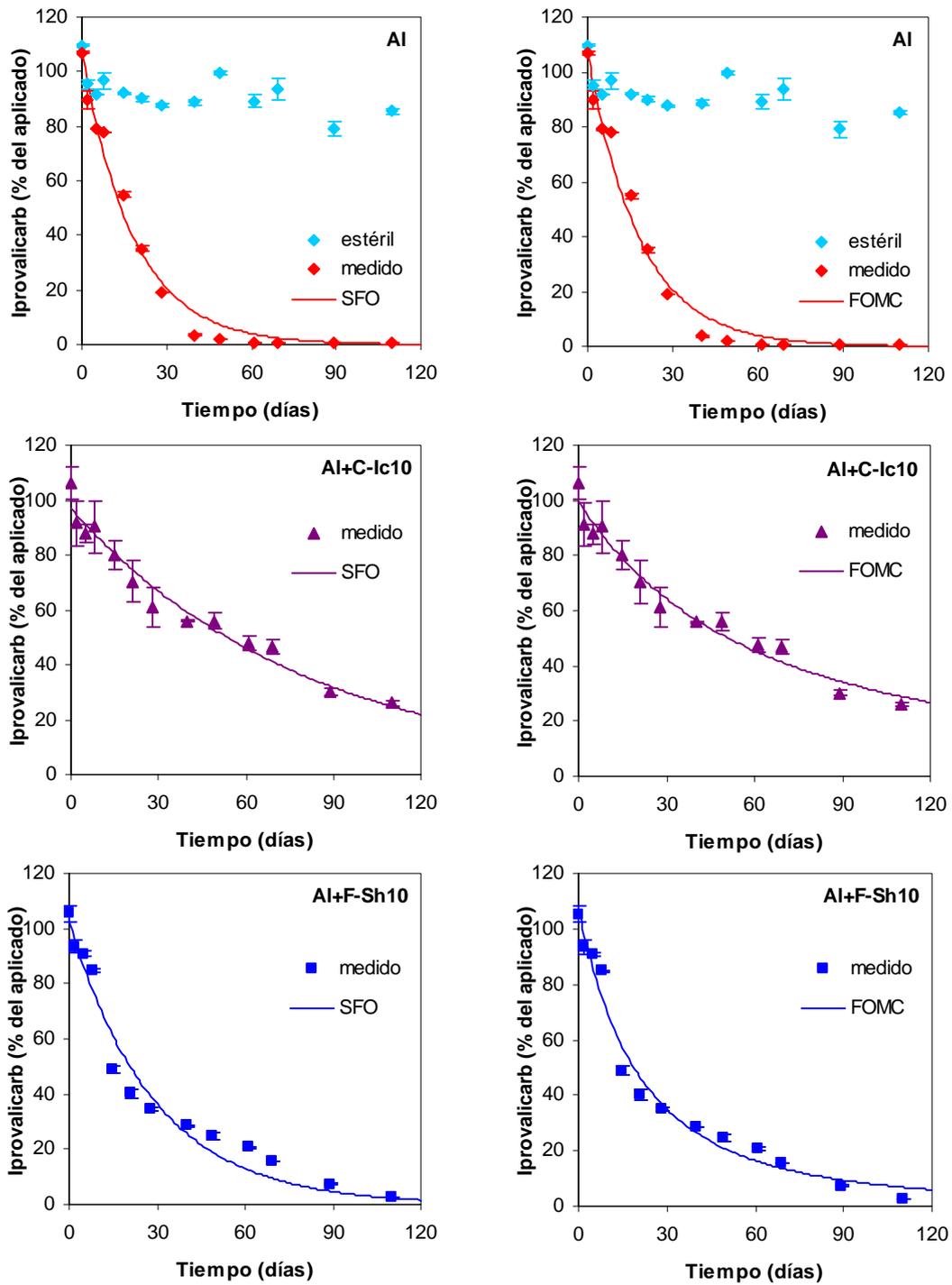


Figura 26. Disipación de iprovalicarb en el suelo AI sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic o F-Sh a la dosis del 10%. Datos experimentales ajustados a cinéticas de primer orden (SFO) o de primer orden multicompartimental (FOMC). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

La curva de disipación de iprovalicarb en el suelo AI sin enmendar se ajustó mejor a una cinética de primer orden, mientras que las curvas de disipación del fungicida en el suelo enmendado con los residuos orgánicos, se ajustaron mejor a una cinética de primer orden multicompartimental, como indican los valores de error del test χ^2 obtenidos en el ajuste de los datos a los modelos cinéticos (Tabla 16). Los valores de vida media (DT_{50}) para el iprovalicarb, calculados a partir de las ecuaciones cinéticas correspondientes, oscilaron entre 12.6 días en el suelo AI sin enmendar y 51.4 días en el suelo enmendado con C-Ic, e indicaron una disipación más rápida del fungicida en el suelo sin enmendar, donde el iprovalicarb presenta menor adsorción (Tabla 11) debido a sus características (textura franco arcillo arenosa y bajo contenido en CO (0.59%)). Estos datos están de acuerdo con los encontrados en la bibliografía (ECHCD, 2002; FOOTPRINT, 2011), que indican una disipación rápida de iprovalicarb en el suelo, con una vida media entre 2 y 30 días obtenida en estudios de laboratorio (20°C), y entre 4.7 y 27 días en estudios de campo. También Hennebole y Bornatsch (1997) han encontrado una rápida degradación o un fuerte enlace de iprovalicarb en la matriz del suelo ($DT_{50} = 2 - 30$ días) en cuatro suelos diferentes en estudios de laboratorio, confirmando la baja persistencia de este fungicida.

Tabla 16. Parámetros cinéticos de disipación de iprovalicarb en el suelo sin enmendar y enmendado con los residuos a la dosis del 10% obtenidos mediante el modelo cinético de primer orden (SFO) y el modelo cinético de primer orden multicompartimental (FOMC)

Suelo	Modelo SFO				Modelo FOMC				
	k (d ⁻¹)	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ^2	α	β	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ^2
AI	0.055	12.6	0.984	11.0	5.69x10 ⁴	10.3x10 ⁵	12.6	0.984	11.4
AI+C-Ic10	0.012	55.9	0.943	5.4	1.67	99.7	51.4	0.949	5.2
AI+F-Sh10	0.035	20.1	0.968	10.9	2.28	47.2	16.7	0.978	9.1

La persistencia de iprovalicarb en los suelos enmendados aumentó en mayor medida en el suelo AI+C-Ic10 debido, posiblemente, a la mayor adsorción del fungicida por este suelo ($K_d = 3.12$ mL g⁻¹) que por el suelo AI+F-Sh10 ($K_d = 2.23$ mL g⁻¹). Estos coeficientes de adsorción fueron, respectivamente, 4.5 y 3.2 veces más elevados que el obtenido en el suelo sin enmendar debido al aumento en el contenido en CO de los suelos enmendados. Además, la tendencia de adsorción por el suelo AI+C-Ic10 se mantuvo después de 6 meses de tratamiento del suelo con el residuo y esto podría explicar la mayor persistencia de iprovalicarb en este suelo, donde la vida media aumentó más de 4 veces respecto al suelo sin enmendar. La influencia de la adsorción sobre las cinéticas de

disipación de los pesticidas en el suelo se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios de laboratorio y de campo (Laabs y col., 2000) debido a la disminución de la biodisponibilidad y biodegradación de los pesticidas adsorbidos por el suelo (Alexander, 2000). La influencia de enmiendas orgánicas en la disipación y persistencia de otros pesticidas, incluyendo algunos fungicidas, también se ha puesto de manifiesto en distintos estudios (Briceño y col., 2007; Grenni y col., 2009; Herrero-Hernández y col., 2011b).

La cinética de disipación fue muy lenta en el suelo esterilizado sin enmendar permaneciendo después de 110 días el 85.4% del iprovalicarb inicialmente añadido. Este resultado indica que la disipación del iprovalicarb con el tiempo se debe principalmente a procesos de biodegradación, siendo la degradación química del compuesto menos importante o más lenta que la degradación biológica.

Simultáneamente a la determinación del iprovalicarb, durante el período de disipación en el suelo, se llevó a cabo una monitorización cualitativa de algunos productos de degradación del fungicida, citados en la bibliografía como frecuentemente generados en el suelo a partir del compuesto original. El metabolito encontrado con más frecuencia durante la degradación del iprovalicarb en el suelo es el 1-(4-metilfenil)etilamina, que se forma por ruptura del enlace amida de la molécula de iprovalicarb (ECHCD, 2002). Además en el suelo, el iprovalicarb se puede degradar también formando el ácido carboxílico del iprovalicarb y el ácido tereftálico, por oxidación del grupo metilo del anillo aromático del producto anterior (Maity y Mukherjee, 2009). Estos tres productos de degradación fueron monitorizados durante el experimento de disipación de iprovalicarb en los suelos sin enmendar y enmendados, pero sólo se encontraron trazas de los mismos en el suelo Al+F-Sh10 (datos no presentados). Estos resultados podrían indicar la formación de otros productos de degradación de iprovalicarb en los suelos según la composición de los mismos o la naturaleza de la enmienda añadida, o bien que la disipación del fungicida transcurra en mayor medida por un proceso de mineralización (no determinada).

Pirimetanil

Las curvas de disipación de pirimetanil en el suelo Al sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic y F-Sh se incluyen en la Figura 27, y en la Tabla 17 se muestran los parámetros cinéticos de disipación obtenidos del ajuste de las curvas experimentales a los modelos cinéticos SFO y FOMC. La disipación total del fungicida en los suelos enmendados transcurrió en un período de 58 días y en el suelo sin enmendar fue también prácticamente total, ya que la cantidad remanente del fungicida fue menor del 10% al final del período de incubación. En el suelo esterilizado sin enmendar no se observó disipación del compuesto después de 58 días de incubación, lo que indica que la disipación es debida principalmente a procesos de degradación microbiológica del fungicida. En otros trabajos de la bibliografía también se ha indicado que la

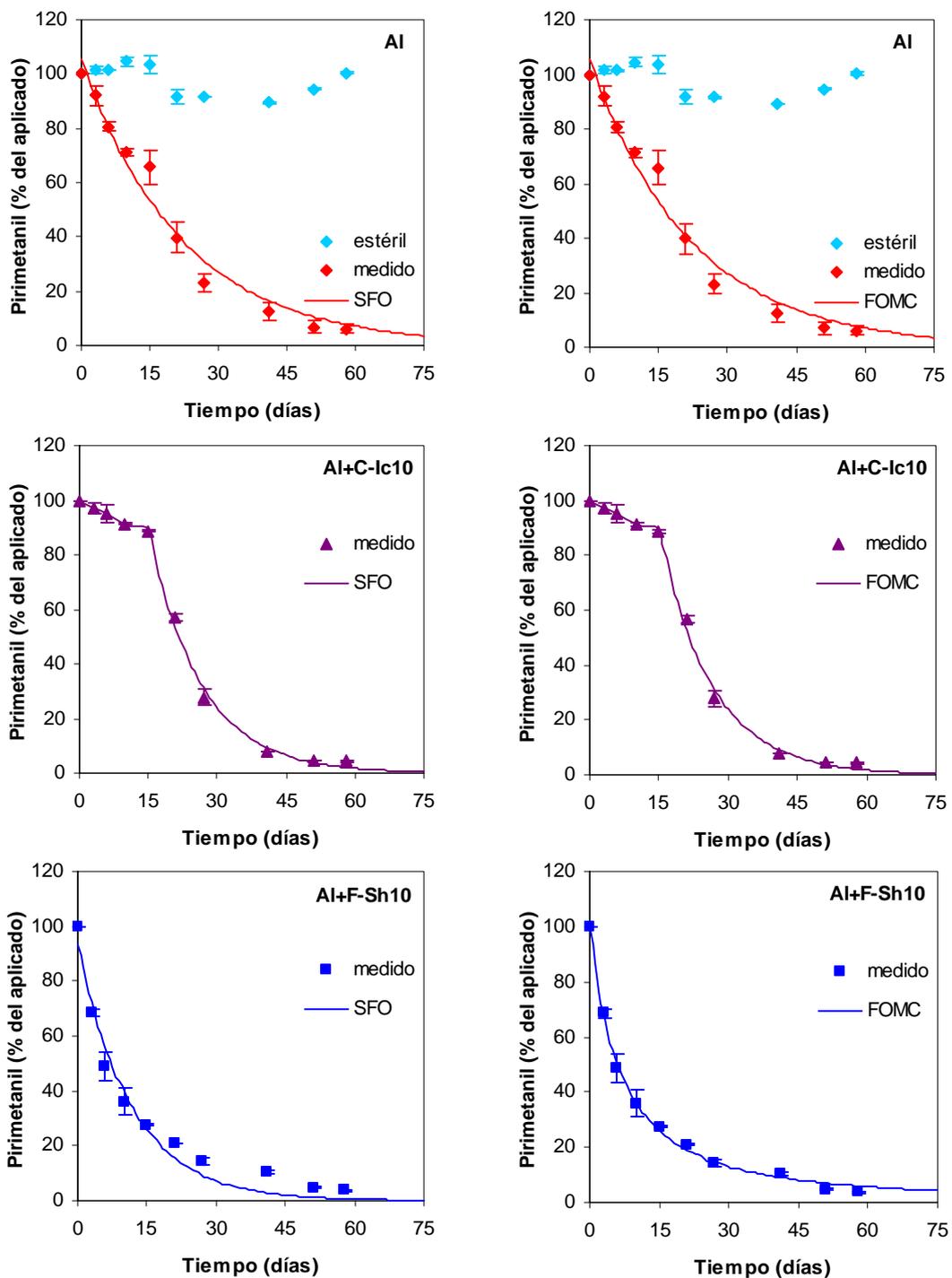


Figura 27. Disipación de pirimetanil en el suelo AI sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic o F-Sh a la dosis del 10%. Datos experimentales ajustados a cinéticas de primer orden (SFO) o de primer orden multicompartimental (FOMC). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

degradación de pirimetanil en suelos bajo condiciones aerobias es debida a procesos de biodegradación principalmente (Vanni y col., 2006).

La curva de disipación de pirimetanil en el suelo sin enmendar se ajustó mejor a una cinética de primer orden. En el caso de los suelos enmendados, el comportamiento fue diferente. La curva de disipación en el suelo Al+F-Sh10 se ajustó mejor a una cinética de primer orden multicompartimental, mientras que en el suelo Al+C-Ic10, la curva de disipación presentó inicialmente una fase de latencia de 15 días durante la cual la disipación del fungicida fue muy lenta. Después de este período, la velocidad de disipación aumentó y la curva siguió una cinética de primer orden (Figura 27). Modelos cinéticos similares a éste han sido citados en la bibliografía para describir la disipación de otros pesticidas y/o fungicidas en suelos superficiales y subsuperficiales (Rodríguez-Cruz y col., 2006; Bending y Rodríguez-Cruz, 2007).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, los valores de vida media oscilaron en el rango 6.1-22.9 días (Tabla 17), disminuyendo en el orden: Al+F-Sh10 < Al < Al+C-Ic10. Estos valores son menores que los encontrados en la bibliografía en estudios de laboratorio en suelos (20°C) que oscilan entre 27.9-71.8 días (Vanni y col., 2003; EFSA, 2006; FOOTPRINT, 2011), aunque Abbate y col. (2009) también encontraron valores de vida media de pirimetanil más bajos, oscilando entre 18 y 27 días en ensayos en laboratorio a 30°C en suelos con alto contenido en MO (3.44%-16.2%).

Tabla 17. Parámetros cinéticos de disipación de pirimetanil en el suelo sin enmendar y enmendado con los residuos a la dosis del 10% obtenidos mediante el modelo cinético de primer orden (SFO) y el modelo cinético de primer orden multicompartimental (FOMC)

Suelo	Modelo SFO				Modelo FOMC				
	k (d ⁻¹)	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ ²	α	β	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ ²
Al	0.045	15.3	0.972	8.7	4.82x10 ⁴	1.07x10 ⁶	15.3	0.972	9.1
Al+C-Ic10	0.088	7.9+15 ^a	0.994	6.1	9.26x10 ³	1.05x10 ⁵	7.9+15 ^a	0.994	6.7
Al+F-Sh10	0.085	8.2	0.974	12.3	1.5	10.4	6.1	0.994	3.6

^a Fase de latencia (disipación lenta) antes del inicio de la disipación = 15 días

El valor de vida media de pirimetanil más elevado se encuentra en el suelo Al+C-Ic10 debido a la fase de latencia inicial de 15 días de duración ya indicada. Esta fase refleja el tiempo de adaptación de los microorganismos, en cuanto al crecimiento de la población microbiana, necesario para degradar el fungicida y a la dinámica de los organismos capaces de utilizar el

fungicida como una fuente de energía. Este comportamiento observado en el suelo Al+C-Ic10 podría estar relacionado con su mayor adsorción por este suelo ($K_d = 9.88 \text{ mL g}^{-1}$), disminuyendo su disponibilidad para ser degradado, lo que podría explicar su mayor persistencia en el suelo y la lenta velocidad de disipación durante los primeros días de incubación como etapa previa al comienzo de la disipación rápida del fungicida. También Komárek y col. (2010) han indicado una relación entre la alta afinidad del pirimetanil por la fase sólida del suelo y su dificultad para ser degradado.

El comportamiento del pirimetanil en el suelo Al+C-Ic10 respecto al suelo sin enmendar puede explicarse debido al coeficiente de adsorción casi 9 veces más elevado. Sin embargo, el coeficiente de adsorción por este suelo sólo fue 1.4 veces más elevado que por el suelo enmendado con F-Sh. En este último suelo, la velocidad de disipación del fungicida es más elevada que en el suelo sin enmendar, a pesar de que la adsorción del fungicida es mayor (Tabla 12), lo que se podría explicar por el mayor contenido en COD del suelo Al+F-Sh10 (10.47 mg g^{-1}). El pirimetanil podría permanecer en la solución del suelo adsorbido por el COD como ha sido indicado para otros pesticidas (Barriuso y col., 2010), aumentando su disponibilidad para ser degradado. Además en este suelo, se detectó la mayor tendencia a disminuir la adsorción con el tiempo de tratamiento del suelo con el residuo, en línea con la disminución del COD (Tabla 13), y el valor de K_d disminuyó casi el 50% después de 6 meses de incubación del suelo con el residuo.

Una relación variable entre adsorción y degradación ha sido indicada por Delgado-Moreno y Peña (2009) en la degradación de herbicidas triazínicos en suelos enmendados con alperujo sin compostar y compostado, y por Cabrera y col. (2007) en la degradación de diurón y terbutilazina en suelos enmendados también con alperujo en laboratorio y en campo, indicando que otros procesos tales como el tratamiento previo del suelo con el pesticida podrían también afectar a la degradación. Para otras enmiendas como el *biochar*, Spokas y col. (2009) observaron siempre una disminución significativa de la disipación de atrazina y acetocloro debido al aumento de su adsorción por suelos enmendados, mientras que la adición de lignina al suelo no tuvo efecto en la degradación de cianazina, isoproturón y clorotolurón, a pesar de tener un efecto significativo sobre la adsorción de acuerdo con Beulke y col. (2005).

Se estudió también la formación de posibles productos de degradación del pirimetanil, en los suelos sin enmendar y enmendados durante el período de incubación, tales como el 2-amino-4,6-dimetilpirimidina, formado en el suelo por ruptura del enlace fenil-aminopirimidina del pirimetanil (Vanni y col., 2006; FOOTPRINT, 2011). Sólo se encontraron trazas del mismo en el suelo sin enmendar (datos no presentados). Otros metabolitos, como el ácido benzoico y la etilurea detectados por Vanni y col. (2003) en estudios de degradación del pirimetanil en el suelo, tampoco fueron observados en este estudio. La posible mineralización del fungicida o la formación de residuos enlazados no extraíbles con metanol (no determinados) podrían explicar la rápida

disipación de este fungicida en los suelos estudiados, aunque no se han encontrado referencias en la bibliografía relativas a este comportamiento.

Metalaxil

Las curvas de disipación de metalaxil en el suelo sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y en el suelo enmendado con C-Ic o F-Sh se muestran en la Figura 28, y en la Tabla 18 se incluyen los parámetros cinéticos de disipación del fungicida. La disipación total del metalaxil en el suelo sin enmendar tuvo lugar durante un período de incubación de 110 días, mientras que este período se prolongó durante 175 días para los suelos enmendados debido a la disipación más lenta del fungicida. Por otra parte, en el suelo esterilizado sin enmendar, el comienzo de la disipación del metalaxil tuvo lugar a los 64 días de incubación, y se observó una disipación del 44% del fungicida hasta los 141 días. Este comportamiento de disipación lenta en el suelo esterilizado fue también observado, aunque en un porcentaje menor, para el iprovalicarb, fungicida poco adsorbido por el suelo al igual que el metalaxil.

Los resultados indicaron que la disipación del fungicida en el suelo debe transcurrir principalmente por procesos de degradación microbiológica como se ha puesto de manifiesto en la bibliografía (Sukul y Spiteller, 2000, 2001a), aunque la disipación en el suelo esterilizado indicó también la influencia de factores abióticos no relacionados con la fotodegradación, ya que los suelos se mantuvieron en oscuridad durante todo el experimento.

Las curvas de disipación de metalaxil se ajustaron bien a un modelo cinético de primer orden, tanto en el suelo sin enmendar como en el suelo enmendado con ambos residuos (Tabla 18). También en la bibliografía se encuentran frecuentemente curvas de disipación de metalaxil ajustadas a cinéticas de primer orden (Sukul y Spiteller, 2001b; Monkiedje y Spiteller, 2005; Rodríguez-Cruz y col., 2011a), aunque autores como Karanasios y col. (2010b) han obtenido mejores ajustes de las curvas de disipación de metalaxil, en un suelo sin enmendar o enmendado con mezclas de residuos orgánicos, a modelos cinéticos multicompartimentales.

La vida media del metalaxil fue de 31.1 días en el suelo sin enmendar, similar a la encontrada en el suelo Al+F-Sh10 (31.4 días), a pesar de que la adsorción de metalaxil por el suelo Al+F-Sh10 ($K_d = 0.70 \text{ mL g}^{-1}$) fue más elevada que por el suelo sin enmendar ($K_d = 0.20 \text{ mL g}^{-1}$). Igual que se ha indicado para otros de los fungicidas estudiados, la disipación de metalaxil en el suelo Al+F-Sh10 estuvo más próxima a la que tiene lugar en el suelo sin enmendar que en el suelo Al+C-Ic10, debido su alto contenido en COD que puede favorecer la presencia del fungicida en solución durante el período de envejecimiento en el suelo, estando más biodisponible para ser degradado por los microorganismos del suelo. Además, la evolución del COD con el tiempo dio lugar a una disminución del 30% de la capacidad adsorbente del suelo Al+F-Sh10 después de 6

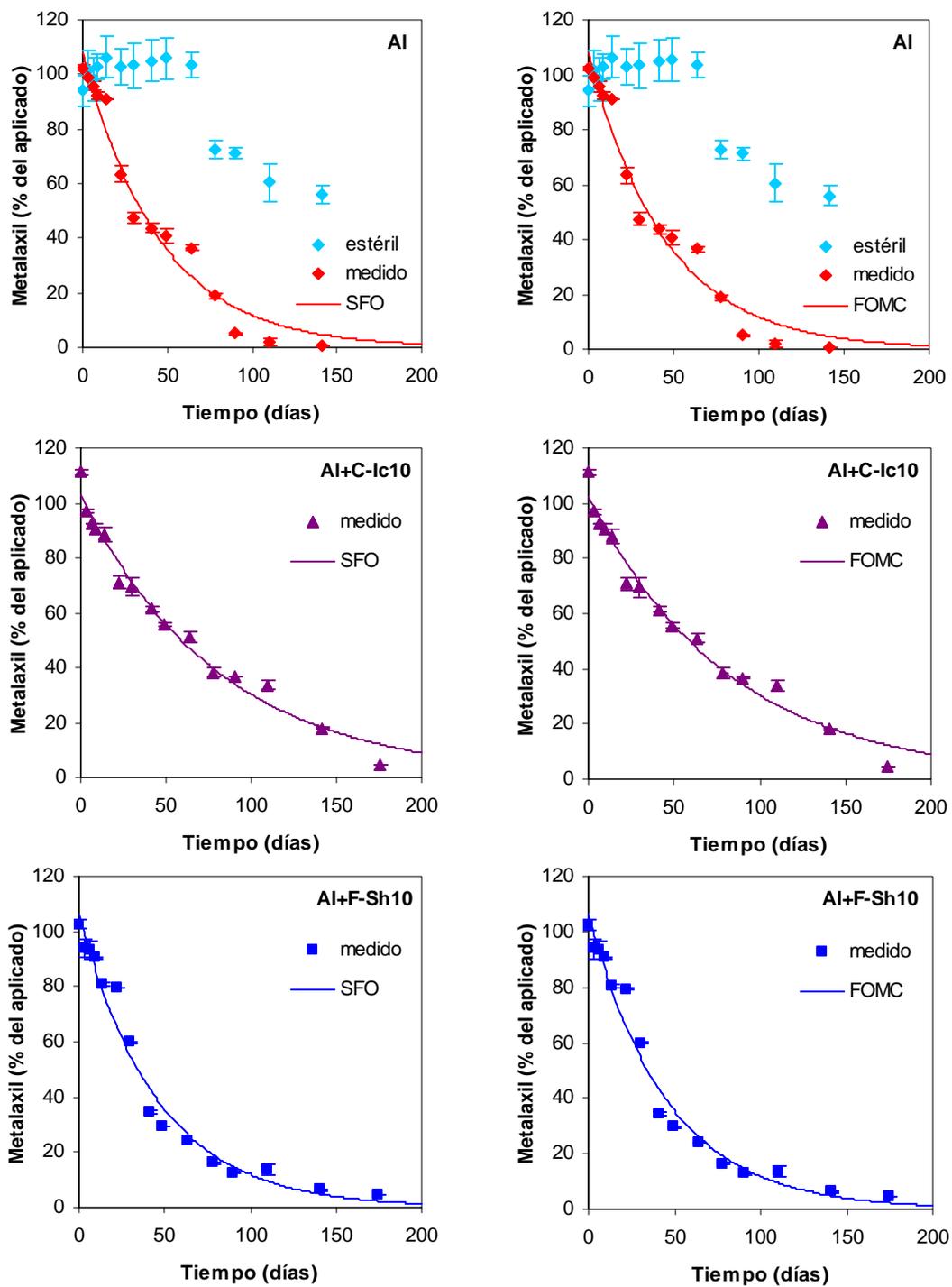


Figura 28. Disipación de metalaxil en el suelo AI sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic y F-Sh a la dosis del 10%. Datos experimentales ajustados a cinéticas de primer orden (SFO) o de primer orden multicompartimental (FOMC). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

meses de tratamiento del suelo con los residuos (Tabla 12). Sin embargo, en el suelo enmendado con C-Ic, la DT_{50} fue mayor (56.7 días) que en el suelo sin enmendar debido a la mayor adsorción del metalaxil por el suelo enmendado (valor de K_d hasta 6 veces mayor que en suelo sin enmendar, Tabla 12), haciendo que el fungicida esté menos disponible para ser degradado.

Tabla 18. Parámetros cinéticos de disipación de metalaxil en el suelo sin enmendar y enmendado con los residuos a la dosis del 10% obtenidos mediante el modelo cinético de primer orden (SFO) y el modelo cinético de primer orden multicompartimental (FOMC)

Suelo	Modelo SFO				Modelo FOMC				
	k (d ⁻¹)	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ^2	α	β	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ^2
Al	0.022	31.1	0.970	9.8	2.51x10 ⁴	10.6x10 ⁵	29.4	0.968	10.4
Al+C-Ic10	0.012	56.7	0.978	5.8	1.99x10 ²	1.63x10 ⁴	56.9	0.978	6.0
Al+F-Sh10	0.022	31.4	0.974	8.6	1.41x10 ⁴	6.38x10 ⁵	31.4	0.974	8.9

Los valores de vida media encontrados en este estudio son del mismo orden que los encontrados en la bibliografía, que oscilan entre 14 y 42 días (ECHCD, 2010; FOOTPRINT, 2011). Rodríguez-Cruz y col. (2011a) han observado una disminución de la velocidad de degradación de metalaxil en un suelo enmendado con residuos de madera de pino y roble (DT_{50} = 68.6-144 días) respecto al suelo sin enmendar (DT_{50} = 29.1 días), debido a la mayor adsorción del metalaxil por el suelo enmendado y a su menor disponibilidad para ser degradado. De manera similar, Fernandes y col. (2006) justificaron el aumento en la vida media del metalaxil, desde 66 días en un suelo sin enmendar hasta 88-231 días en los suelos enmendados con enmiendas orgánicas comerciales, por el aumento de adsorción que protege al fungicida de la degradación. Aunque también indicaron que un efecto tóxico por parte de la enmienda añadida sobre los microorganismos responsables de la degradación en el suelo y/o el uso preferente de la enmienda como fuente de nitrógeno y/o carbono por parte de los microorganismos en lugar del fungicida podrían favorecer el aumento de la DT_{50} del metalaxil. La variabilidad de los resultados encontrados para la DT_{50} de este fungicida está de acuerdo con la influencia que el origen, naturaleza y tipo de la materia orgánica del suelo debe tener en su degradación, tanto en suelos enmendados como sin enmendar (Komárek y col., 2010).

Respecto a los productos de degradación de metalaxil en el suelo, Pesaro y col. (2004) han indicado la formación de un metabolito principal, el ácido 2-[(2,6-dimetilfenil)-metoxiacetilamino]-propiónico (metabolito 1), bien por ruptura del grupo metil éster, por hidroxilación bencílica de la cadena de metilos o por hidroxilación aromática; y un segundo metabolito, el N-(2,6-dimetilfenil)-2-metoxiacetamida (metabolito 2), formado directamente a partir de la degradación del metalaxil o a partir del metabolito 1 por N-desalquilación. La formación de los dos metabolitos se estudió junto con la disipación del metalaxil y ambos compuestos fueron detectados y cuantificados durante todo el proceso de incubación, tanto en el suelo no enmendado como en el suelo enmendado con los dos residuos. Las cantidades de metabolitos encontradas en función del tiempo se muestran en la Figura 29.

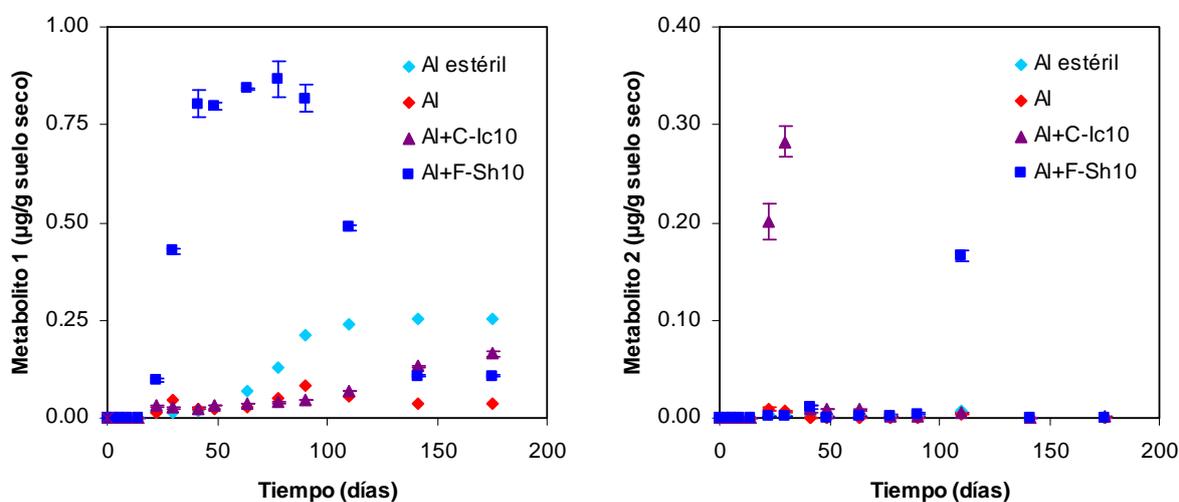


Figura 29. Evolución de los metabolitos 1 y 2 del metalaxil en función del tiempo de incubación del fungicida en el suelo Al sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic y F-Sh. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Las concentraciones de metabolito 1 fueron mayores que las de metabolito 2. En el suelo enmendado con F-Sh se detectó la formación de las cantidades más elevadas de metabolito 1, especialmente entre 30 y 110 días, alcanzándose una cantidad máxima de $0.87 \mu\text{g g}^{-1}$ después de 78 días de incubación. En el suelo sin enmendar se detectó una cantidad máxima de $0.08 \mu\text{g g}^{-1}$ a los 90 días, y en el suelo enmendado con C-Ic, una cantidad máxima de $0.16 \mu\text{g g}^{-1}$ después de 175 días de incubación. Cabe destacar, que en el suelo sin enmendar y esterilizado se forma una cantidad detectable de metabolito 1 después de 64 días de incubación, que es el tiempo a partir del cual comienza la disipación del metalaxil en esa muestra de suelo como se ha indicado anteriormente. Las cantidades máximas detectadas de metabolito 2 fueron 0.01 , 0.28 y $0.17 \mu\text{g g}^{-1}$

para el suelo sin enmendar o enmendado con C-Ic o F-Sh a 22, 30 y 110 días, respectivamente (Figura 29).

Aunque la disipación de metalaxil en el suelo enmendado con C-Ic fue más lenta y la formación del metabolito 1 fue menor, se detectaron mayores cantidades de metabolito 2 en este suelo en comparación con el suelo sin enmendar y el suelo enmendado con F-Sh. Esto podría indicar la degradación del metalaxil para formar el metabolito 2 directamente. La formación del metabolito 1 y del metabolito 2 del metalaxil se ha detectado frecuentemente en estudios de disipación del fungicida en suelos sin enmendar o enmendados con distintos residuos orgánicos (Sukul y Spiteller, 2001b; Pesaro y col., 2004; Monkiedje y Spiteller, 2005; Rodríguez-Cruz y col., 2011a).

Penconazol

La Figura 30 muestra las curvas de disipación de penconazol en el suelo AI sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con F-Sh y C-Ic, y en la Tabla 19 se recogen los parámetros cinéticos de disipación obtenidos del ajuste de las curvas experimentales a los dos modelos cinéticos. El tiempo de incubación de los suelos con el penconazol se prolongó más de 250 días, ya que la disipación de este fungicida en los suelos estudiados fue muy lenta. A pesar de este largo periodo de envejecimiento del fungicida, no se observó ninguna disipación del compuesto en el suelo esterilizado sin enmendar, lo que indica que este proceso es debido principalmente a procesos de degradación microbiológica del fungicida.

Las curvas de disipación de penconazol en el suelo sin enmendar y enmendado se ajustaron bien a cinéticas de primer orden, como también se ha indicado, en general, en la bibliografía (EFSA, 2008; Singh y Dureja, 2009), aunque la curva de disipación del fungicida en el suelo enmendado con C-Ic se ajustó mejor a una cinética de primer orden multicompartimental (Tabla 19). Los valores de vida media siguieron el orden: AI < AI+F-Sh10 << AI+C-Ic10, indicando la gran influencia de la aplicación de la enmienda al suelo para aumentar la persistencia del penconazol en condiciones de laboratorio. Al igual que para los otros fungicidas estudiados, la disipación de penconazol en el suelo enmendado con C-Ic fue más lenta, debido a la mayor adsorción del fungicida por este suelo ($K_d = 26.5 \text{ mL g}^{-1}$), lo que explicaría que el fungicida esté menos disponible para ser degradado por los microorganismos. Sin embargo, el coeficiente de adsorción de penconazol por el suelo AI+C-Ic10 sólo fue 1.7 veces más elevado que el coeficiente de adsorción por el suelo AI+F-Sh10 para justificar las diferencias encontradas en los valores de DT_{50} del fungicida, por lo que otros parámetros del suelo enmendado con F-Sh, como ha sido indicado para el pirimetanil, podrían también influir en la disipación del fungicida.

Una cantidad superior al 80% del fungicida añadido al inicio de la incubación fue extraída al final de la incubación del fungicida en el suelo AI+C-Ic10, indicando la influencia del residuo C-Ic

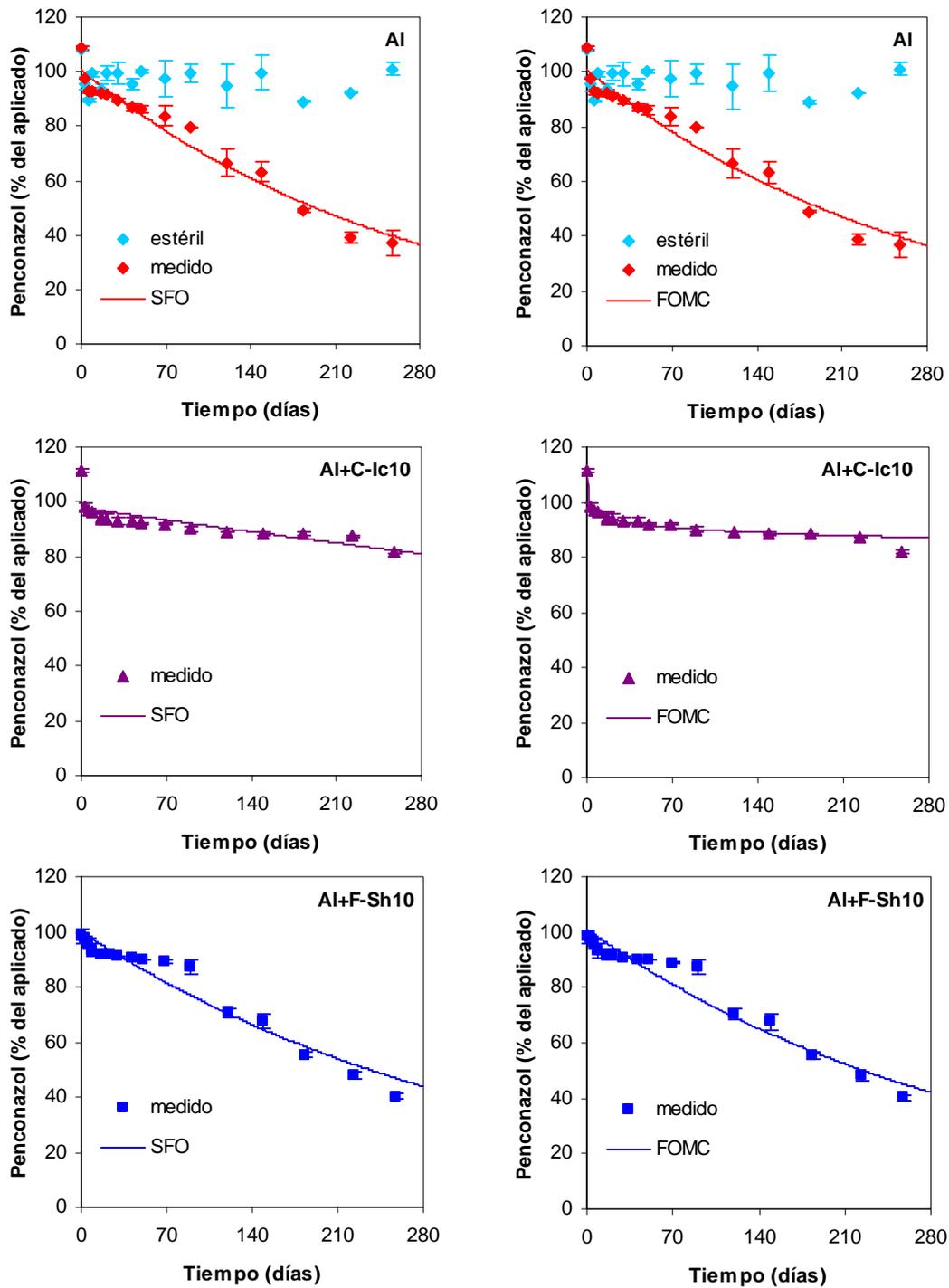


Figura 30. Disipación de penconazol en el suelo AI sin enmendar (esterilizado y sin esterilizar) y enmendado con C-Ic o F-Sh a la dosis del 10%. Datos experimentales ajustados a cinéticas de primer orden (SFO) o de primer orden multicompartimental (FOMC). Las barras de error representan la desviación estándar de la media

para favorecer la persistencia del compuesto en el suelo sin degradar. En el suelo enmendado con F-Sh la disipación del penconazol fue más rápida, y al final del experimento la cantidad de fungicida todavía extraíble fue del 40.2%, muy próxima a la cantidad extraíble en el suelo sin enmendar (36.9%), aunque en este suelo la velocidad de disipación fue más rápida.

Tabla 19. Parámetros cinéticos de disipación de penconazol en el suelo sin enmendar y enmendado con los residuos a la dosis del 10% obtenidos mediante el modelo cinético de primer orden (SFO) y el modelo cinético de primer orden multicompartmental (FOMC)

Suelo	Modelo SFO				Modelo FOMC				
	k (d ⁻¹)	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ ²	α	β	DT ₅₀ (d)	r ²	err χ ²
AI	0.004	192	0.951	4.5	3.30x10 ⁴	9.12x10 ⁶	172	0.951	4.6
AI+C-Ic10	0.007	1032	0.599	3.5	0.029	0.10	24.8x10 ⁸	0.937	1.4
AI+F-Sh10	0.003	235	0.939	4.4	1.14x10 ⁴	3.66x10 ⁶	222	0.937	4.6

Los valores de vida media de penconazol en este estudio coinciden con los valores encontrados en la bibliografía, que varían entre 55.3 y 488 días (EFSA 2008; FOOTPRINT, 2011), indicando que el penconazol presenta una persistencia en el suelo de alta a moderada. En un estudio de degradación del penconazol en laboratorio, en suelos enmendados con biocompost, en condiciones de humedad saturada y sin saturar (60% de la capacidad de campo), las vidas medias encontradas fueron inferiores (rango 3.3 – 57.9 días) a las encontradas en este estudio (Singh y Dureja, 2009), y la adición de la enmienda al suelo incrementó la velocidad de degradación del penconazol debido al aumento de la actividad microbiana del suelo facilitada por la enmienda, acelerando la degradación en los suelos enmendados. Sin embargo, en este trabajo el efecto de la enmienda no facilitó la degradación de penconazol, sino más bien impidió su disipación, especialmente en el suelo AI+C-Ic10.

Dos productos de degradación del penconazol fueron monitorizados durante el tiempo de incubación del fungicida en el suelo sin enmendar y enmendado, el compuesto 2-(2,4-diclorofenil)-3-[1,2,4]triazol-1-il-ácido propiónico (CGA 179944) procedente de la oxidación de la cadena alifática lateral del penconazol en el suelo, y el compuesto 1,2,4-triazol-1-il-ácido acético (CGA 142856), formado por ruptura del puente de unión entre el anillo fenilo y el grupo triazol del fungicida en el suelo (EFSA 2008; FOOTPRINT, 2011). Sin embargo, no se observó su presencia en ninguna de las muestras a pesar de que estos metabolitos, o incluso el compuesto 1,2,4-triazol,

han sido encontrados en el suelo en algunos estudios de degradación del penconazol (EFSA, 2008, FOOTPRINT, 2011).

3.3.2. Mecanismo de disipación de ^{14}C -metalaxil y ^{14}C -penconazol: Cinética de mineralización y formación de residuos enlazados

Metalaxil

En la Figura 31 se muestra la cinética de mineralización de ^{14}C -metalaxil, determinada a partir de la medida del $^{14}\text{CO}_2$ generado (expresado como porcentaje acumulado del ^{14}C aplicado) en función del tiempo de incubación (hasta 175 días), en las muestras de suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh a la dosis del 10% y en la Figura 32 se muestra el balance total de ^{14}C procedente de ^{14}C -metalaxil y/o sus productos de degradación mineralizados, extraídos con metanol y enlazados al suelo (residuos no extraíbles) a distintos tiempos durante la incubación del fungicida en las muestras de suelo sin enmendar y enmendado.

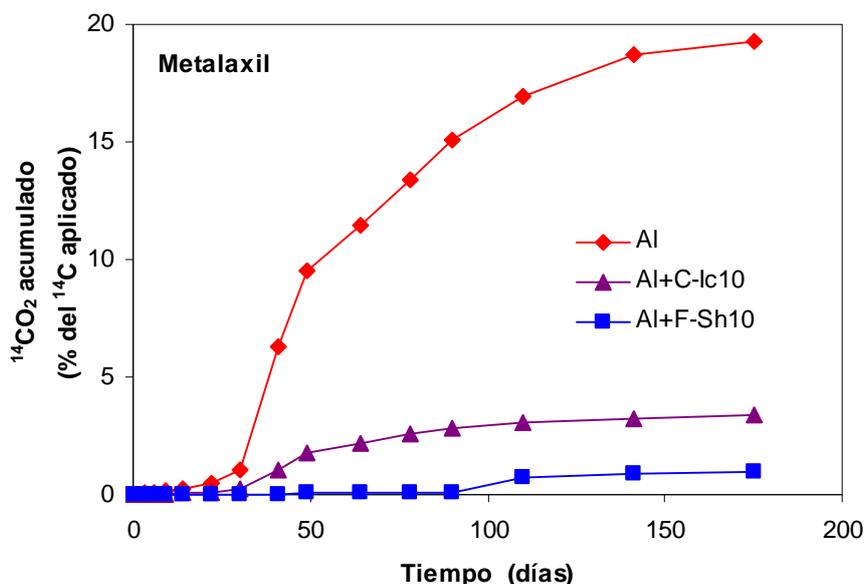


Figura 31. Cinética de mineralización (valores acumulados) de ^{14}C -metalaxil en el suelo Al sin enmendado y enmendado con los residuos C-Ic y F-Sh a distintos tiempos de incubación

La mineralización del fungicida fue muy lenta en todos los suelos hasta los 30 días de incubación, aumentando a partir de ese tiempo, más de 6 veces en el suelo sin enmendar y más de 5 veces en el suelo Al+C-Ic10, hasta alcanzar una estabilización al final del período de

incubación. La fase lenta de mineralización debe corresponder a un período previo de adaptación de la comunidad microbiana del suelo para degradar posteriormente el grupo fenilo del fungicida, donde se encuentra el ^{14}C , de forma más rápida. Esta cinética de mineralización también ha sido observada para otros pesticidas por Rodríguez-Cruz y col. (2006), aunque para compuestos como la atrazina se han descrito cinéticas de mineralización muy rápidas cuando se aplican en suelos con comunidades microbianas adaptadas (Mahía y Díaz-Raviña, 2007).

La mineralización de ^{14}C -metalaxil fue significativamente mayor en el suelo sin enmendar (19.6%) que en el suelo enmendado con C-Ic o F-Sh (3.42% y 1.00%, respectivamente) después de la incubación de los suelos durante 175 días. La mayor mineralización del metalaxil en el suelo sin enmendar está de acuerdo con la mayor velocidad de disipación del fungicida en este suelo. Algunos autores han indicado también una disminución de la mineralización en los suelos enmendados debido a que los microorganismos podrían usar la MO de la enmienda como fuente de carbono en lugar del fungicida (Fernandes y col., 2006). Cabe destacar, que en el suelo enmendado con F-Sh se produce una menor mineralización que en el suelo enmendado con C-Ic a pesar de la mayor velocidad de disipación del metalaxil en este suelo. Esto podría ser debido a la degradación microbiológica o química del metalaxil en este suelo dando lugar al metabolito 1 que no se mineralizó a $^{14}\text{CO}_2$, ya que en el suelo enmendado con F-Sh se detectó la formación de una mayor cantidad de este metabolito, como se ha indicado anteriormente en el estudio de la cinética de disipación (Figura 29). También podría estar de acuerdo con el efecto tóxico del fungicida sobre la población microbiana en este suelo, como indican los resultados de la actividad deshidrogenasa expuestos en el Apartado 3.3.3 de esta Memoria (Figura 35).

Los balances de masa total de ^{14}C recuperado para las tres muestras de suelo sin enmendar y enmendado estudiadas a los distintos tiempos de muestreo y hasta el final del período de incubación correspondientes a la mineralización, extracción (como ^{14}C -metalaxil y/o ^{14}C -metabolitos) y formación de residuos enlazados del fungicida incluidos en la Figura 32 fueron, en general, superiores al 80% del ^{14}C total aplicado (rango entre 71% y 112%).

Las cantidades de ^{14}C extraídas con metanol disminuyeron con el tiempo de incubación, siendo esta disminución mayor en el suelo no enmendado que en el suelo enmendado. Estas cantidades extraídas a los distintos tiempos de muestreo son mayores que las cantidades de metalaxil extraídas en el experimento de incubación utilizando el fungicida sin marcar. Al final del período de incubación, las cantidades de ^{14}C extraídas representan el 10.7%, 25.3% y 17.0% del ^{14}C -metalaxil inicialmente añadido en el suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh, respectivamente. Estas cantidades son superiores a las extraídas desde los suelos incubados con el fungicida no marcado (0.61%, 4.58% y 6.23%, respectivamente), especialmente desde los suelos enmendados y desde los 30 días de incubación del fungicida con los suelos. Las diferencias podrían ser debidas a que las cantidades extraídas de ^{14}C desde los suelos incubados con ^{14}C -metalaxil

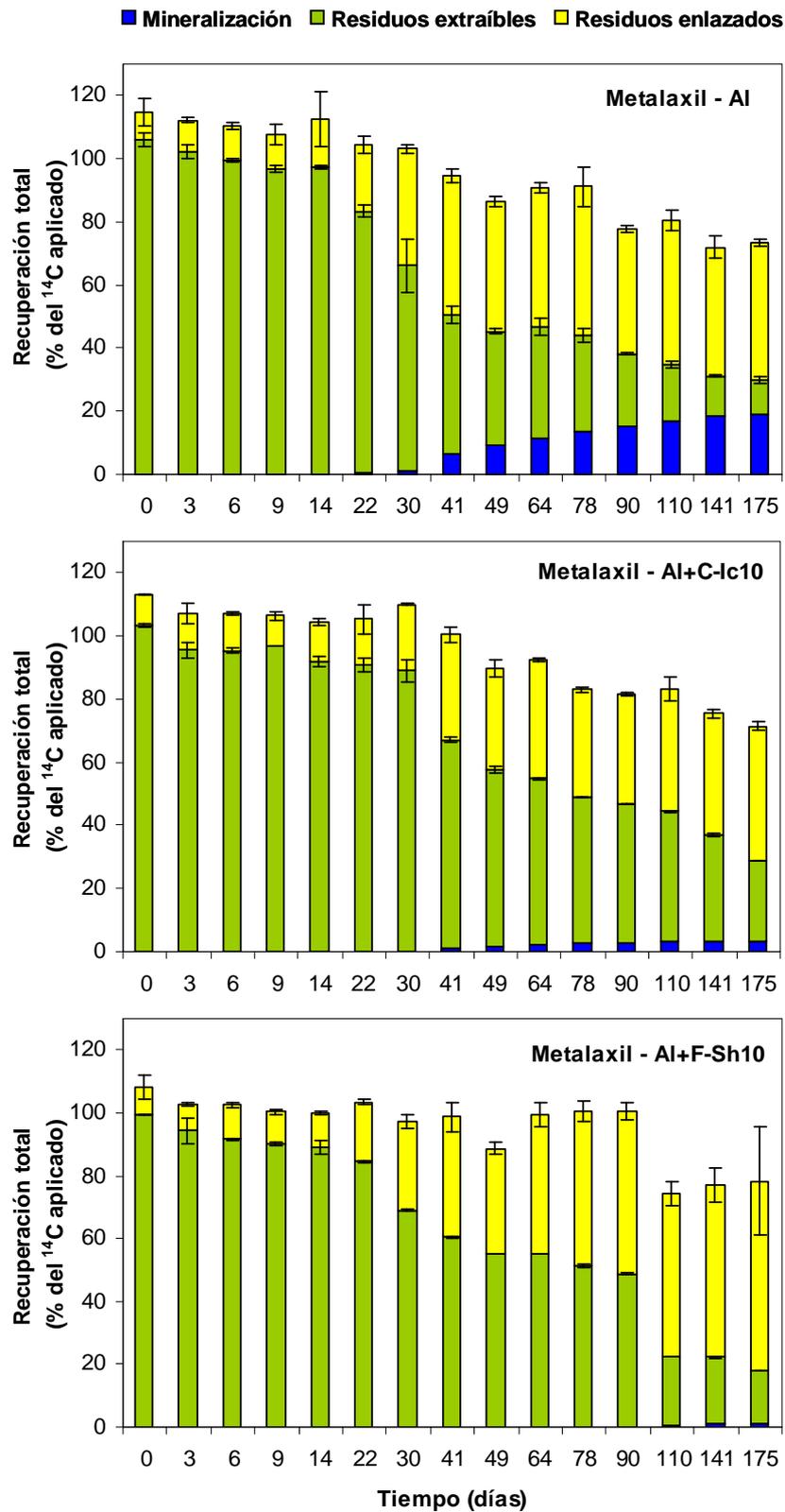


Figura 32. Balances totales del ^{14}C aplicado durante la disipación de ^{14}C -metalaxil en el suelo Al sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh a distintos tiempos de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

corresponden al compuesto original y a los posibles metabolitos que se formen por la degradación del mismo en el suelo durante el período de incubación. El menor porcentaje de metalaxil extraíble en el suelo sin enmendar, comparado con el suelo enmendado con SMS, es debido a la mayor mineralización del fungicida en este suelo.

Durante el período de incubación del ^{14}C -metalaxil en el suelo se forman cantidades crecientes de residuos enlazados, las cuales deben corresponder al ^{14}C -metalaxil y al ^{14}C de los metabolitos del metalaxil formados durante la degradación del fungicida en el suelo. La formación de metabolitos se puso de manifiesto en los análisis por HPLC/MS de los extractos del fungicida no radiactivo, ya que el metabolito 1 fue determinado en mayor o menor concentración en todos los suelos.

Dado que la adsorción del metabolito 1 por el suelo sin enmendar y enmendado con residuos similares (C-Ag y F-Ag) presenta valores del coeficiente de distribución K_d hasta 8 veces mayores que los valores de K_d del metalaxil para el suelo Al y el suelo Al enmendado (Tabla 24), cabe pensar que pueda incorporarse a los suelos como un residuo enlazado no extraíble con metanol y fuertemente adsorbido. Los porcentajes de ^{14}C -residuos enlazados o no extraíbles al final del período de incubación del fungicida en el suelo fueron del 43.8%, 42.7% y 60.3% en el suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh, respectivamente. El metalaxil es poco adsorbido por los suelos, los valores de K_d son 0.20, 1.30 y 0.70 mL g^{-1} para la adsorción por el suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh, y la baja adsorción por el suelo sin enmendar facilitaría la mineralización más elevada en este suelo y la formación de productos de degradación que aumentarían el porcentaje de residuos enlazados. La adsorción más elevada por el suelo Al+C-Ic10 justifica la menor mineralización, aunque la formación de residuos enlazados fue también elevada.

El comportamiento en el suelo enmendado con F-Sh, con menor mineralización y mayor formación de residuos enlazados que en el suelo Al+C-Ic10, lo cual estaría también de acuerdo con su más rápida disipación (DT_{50} menor), podría justificarse considerando el elevado contenido en COD del suelo Al+F-Sh10 y la adsorción de metalaxil por el COD ya indicada. Estas condiciones favorecerían que el fungicida esté en la solución del suelo en condiciones de mayor biodisponibilidad para ser degradado por los microorganismos o para experimentar una degradación química formando, como se ha determinado, el metabolito 1 que podría ser adsorbido posteriormente contribuyendo a aumentar la formación de residuos enlazados en este suelo.

Penconazol

En la Figura 33 se muestra la cinética de mineralización de ^{14}C -penconazol (porcentajes de $^{14}\text{CO}_2$ acumulados en función del tiempo) en el período de incubación del fungicida (258 días) en las muestras de suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh, y en la Figura 34 se muestra el balance total de ^{14}C -penconazol mineralizado, extraído con metanol y enlazado al suelo (residuos

no extraíbles) a distintos tiempos durante la incubación del fungicida en las muestras de suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh.

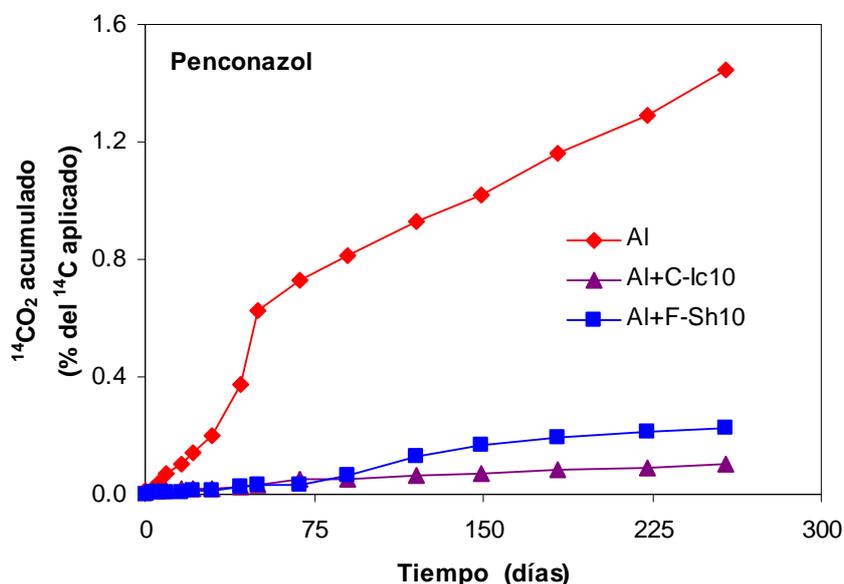


Figura 33. Cinética de mineralización (valores acumulados) de ¹⁴C-penconazol en el suelo AI sin enmendar y enmendado con los residuos C-Ic y F-Sh a distintos tiempos de incubación

La cinética de mineralización de un pesticida en el suelo aporta información sobre la capacidad de los microorganismos para utilizar el compuesto o sus metabolitos como sustrato metabólico. En el caso del ¹⁴C-penconazol, la biodegradación fue muy baja a lo largo del período de incubación estudiado, a pesar de que este proceso parece ser un mecanismo importante de degradación, ya que no se observó disipación en los suelos esterilizados. La mineralización del ¹⁴C-penconazol aumentó progresivamente aunque de forma lenta, especialmente en los suelos enmendados a lo largo del período de incubación del fungicida en el suelo. Al final de este período de incubación, las cantidades de ¹⁴CO₂ acumuladas representan porcentajes de mineralización muy bajos, de acuerdo con la lenta disipación del fungicida en los suelos estudiados como se ha indicado anteriormente. Esta baja mineralización del compuesto indicaría la dificultad de los microorganismos para romper y mineralizar el grupo fenilo de la molécula orgánica donde está localizado el ¹⁴C del ¹⁴C-penconazol. Las cantidades mineralizadas acumuladas representan 1.45%, 0.22% y 0.10% del fungicida inicialmente añadido como ¹⁴C-penconazol, en el suelo sin enmendar y enmendado con F-Sh y C-Ic, respectivamente. Estas cantidades mineralizadas fueron bajas tanto en los suelos sin enmendar como enmendados, aunque fueron menores en los suelos enmendados, pudiendo estar relacionadas con la mayor adsorción del fungicida por estos suelos.

En este sentido, Houot y col. (1998) observaron una menor mineralización de atrazina en un suelo enmendado con paja compostada y con compost de residuos sólidos urbanos que en el suelo sin enmendar debido al aumento de la adsorción del herbicida por la enmienda, aunque este aumento de adsorción no influyó en la mineralización de atrazina en un suelo con mayor historia de aplicación del herbicida (Mahía y Díaz-Raviña, 2007).

Los balances de masa total de ^{14}C recuperado para los suelos sin enmendar y enmendados a distintos tiempos y hasta el final del período de incubación correspondientes a la mineralización, extracción y formación de residuos enlazados del fungicida (Figura 34) fueron, en general, superiores al 90% (rango entre 88% y 110%). Las cantidades de fungicida extraídas con metanol disminuyeron con el tiempo de incubación, siendo esta disminución mayor en el suelo no enmendado que en el suelo enmendado. Al final del período de incubación las cantidades de ^{14}C extraídas representan el 38.8%, el 89.4% y el 63.6% del ^{14}C -penconazol inicialmente añadido en el suelo sin enmendar y en los suelos Al+C-Ic10 y Al+F-Sh10, respectivamente. Estas cantidades son ligeramente superiores a las extraídas desde los suelos incubados con el fungicida no marcado (36.9%, 81.8% y 40.2%, respectivamente), especialmente desde los suelos enmendados al final del período de incubación. Esto podría ser debido a que las cantidades extraídas de ^{14}C desde los suelos incubados con el fungicida marcado en ^{14}C correspondan al compuesto original y a los posibles metabolitos que se formen por la degradación del mismo en el suelo durante el período de incubación, aunque en este estudio no fue posible la detección de ningún metabolito del penconazol por HPLC/MS como se ha indicado anteriormente.

Las cantidades de ^{14}C -penconazol y/o ^{14}C -metabolitos que quedan fuertemente retenidas o enlazadas en el suelo (residuos no extraíbles) después de la extracción del ^{14}C -penconazol fueron determinadas por combustión del ^{14}C de las muestras de suelo tomadas a los distintos tiempos. Los resultados obtenidos indicaron que los porcentajes de ^{14}C -residuos enlazados al suelo aumentan con el tiempo de incubación en todos los suelos, como también ha sido observado por Cabrera y col. (2008) para otros herbicidas y enmiendas, siendo al final del período de 258 días más elevados en el suelo sin enmendar (46.8%) que en los suelos enmendados (17.7% en Al+C-Ic10 y 28.1% en Al+F-Sh10), e indicando mayor formación de residuos enlazados donde se produce la disipación más rápida del fungicida.

Un porcentaje menor de residuos enlazados de penconazol se encontró en los suelos enmendados, a pesar de que el uso de enmiendas orgánicas aumenta el contenido en CO y, en general, se ha indicado que un aumento de la MO del suelo conduce a un aumento de residuos enlazados (Mamy y col., 2005). Sin embargo, Barriuso y col. (1997) indicaron que el efecto de la adición de compost al suelo en la formación de estos residuos dependía de la naturaleza del pesticida, observando incluso una disminución en la formación de residuos enlazados para dimefurón al aumentar la proporción de compost en el suelo.

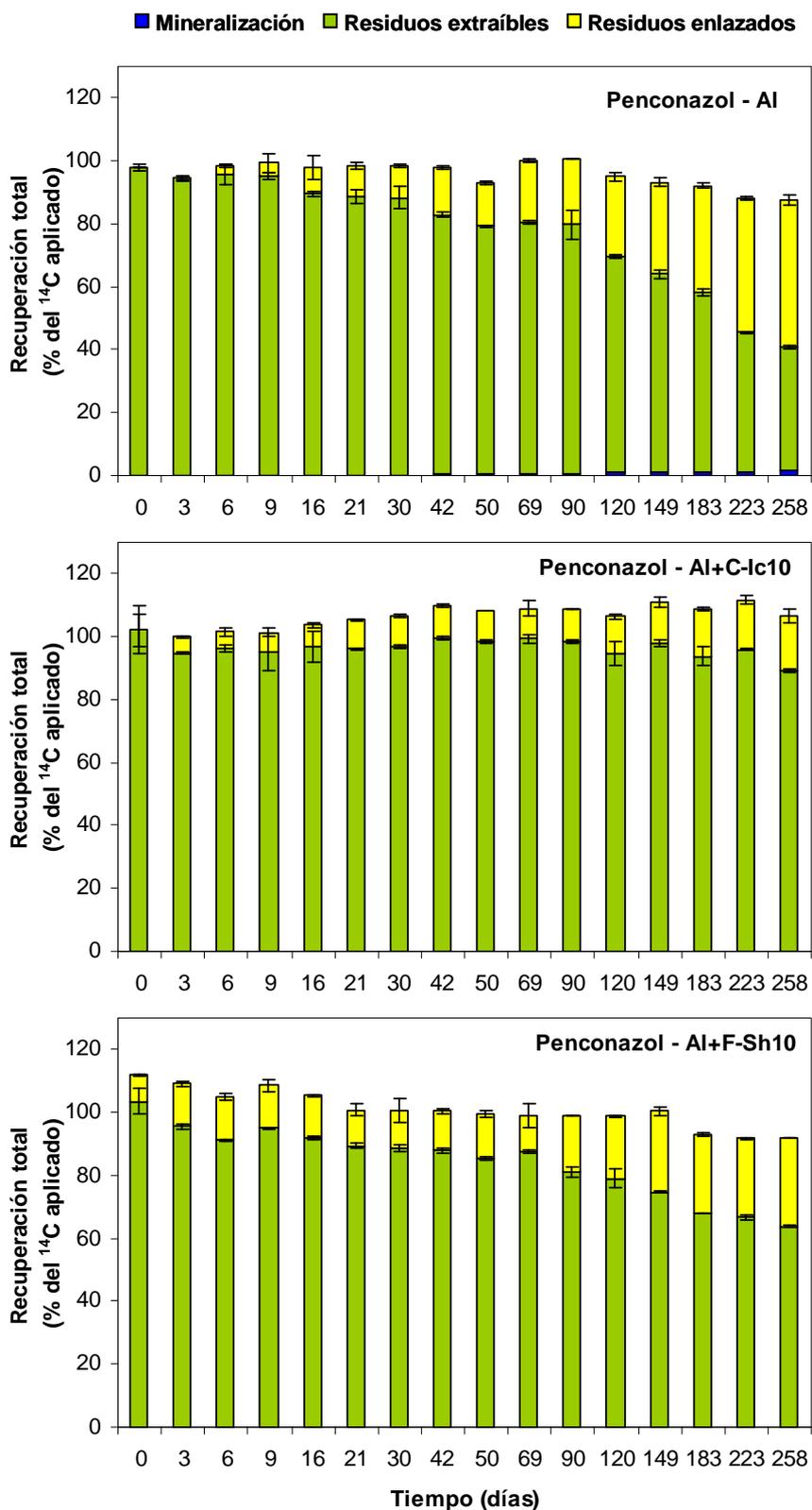


Figura 34. Balances totales del ^{14}C aplicado durante la disipación de ^{14}C -penconazol en el suelo Al sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh a distintos tiempos de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Los resultados obtenidos podrían explicarse considerando la mayor facilidad de los productos de degradación para formar residuos enlazados que el compuesto original (Barriuso y col., 2008). La formación de compuestos de degradación en el suelo AI+C-Ic10 debería ser baja, ya que la adsorción del fungicida por este suelo es la más elevada debido a su alto contenido en CO que se mantiene prácticamente estable con el tiempo de incubación del suelo con el residuo durante 12 meses (Tabla 13). Sin embargo, la adsorción por el suelo sin enmendar fue más baja y la adsorción por el suelo AI+F-Sh10 fue alta inicialmente, cuando el suelo fue enmendado con el residuo, pero disminuyó al aumentar el tiempo de incubación (K_d disminuyó desde 15.2 a 9.8 mL g⁻¹ después de 6 meses de tratamiento) de forma paralela a la disminución del contenido en CO del suelo enmendado. El aumento en la formación de residuos enlazados observado principalmente en el suelo sin enmendar y en el suelo AI+F-Sh10 después de 50 y 90 días de incubación, respectivamente, podría estar relacionado con el aumento de los productos de degradación de penconazol con facilidad para formar residuos enlazados. En este sentido, cabe señalar que algunos metabolitos citados anteriormente para el penconazol, aunque no fueron detectados por HPLC/MS, tal como el ácido 2-(2,4-dicloro-fenil)-3-[1,2,4]triazol-1-il-propiónico con el ¹⁴C en el anillo fenilo, podrían haber contribuido a la formación de residuos enlazados ya que, de acuerdo con lo indicado por Barriuso y col. (2008), estos metabolitos son más reactivos para formar estos residuos que el compuesto original.

De acuerdo con lo anterior, se puede citar un informe elaborado por la European Food Safety Authority (EFSA, 2008) sobre penconazol indicando la posibilidad de degradación de este fungicida en el suelo, dando lugar a distintos metabolitos y residuos no extraíbles que progresivamente podrían mineralizarse a CO₂, aunque de forma lenta.

3.3.3. Actividad deshidrogenasa del suelo como medida de la actividad microbiana de los suelos

La actividad deshidrogenasa del suelo sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh tratados con los distintos fungicidas (iprovalicarb, pirimetanil, metalaxil, y penconazol) y sin tratar con los fungicidas (suelos control) se determinó como una medida de la actividad microbiana del suelo (Tabatabai, 1994). En la Figura 35 se presentan los resultados obtenidos a distintos tiempos durante el período de incubación de los suelos.

La actividad deshidrogenasa fue siempre más alta en los suelos enmendados que en el suelo sin enmendar, de acuerdo con los valores medios obtenidos 27.9 (AI), 266 (AI+C-Ic10) y 496 µg TPF g⁻¹ suelo seco (AI+F-Sh10) correspondientes a las medidas realizadas a diferentes tiempos de incubación. La adición de los residuos orgánicos al suelo estimuló esta actividad enzimática debido posiblemente al aumento del contenido en CO disponible del suelo enmendado y al aumento de la población microbiana del suelo tras la adición de la enmienda. Resultados similares

se han encontrado en suelos enmendados con otros residuos orgánicos, tales como alfalfa y paja (Chen y col., 2001), residuos de la producción del aceite de oliva (Delgado-Moreno y Peña, 2007), residuos de la madera (Grenni y col., 2009), orujo gastado de uva (Romero y col., 2010) o residuos postcultivo de hongos (Kadian y col., 2010; Herrero-Hernández y col., 2011b).

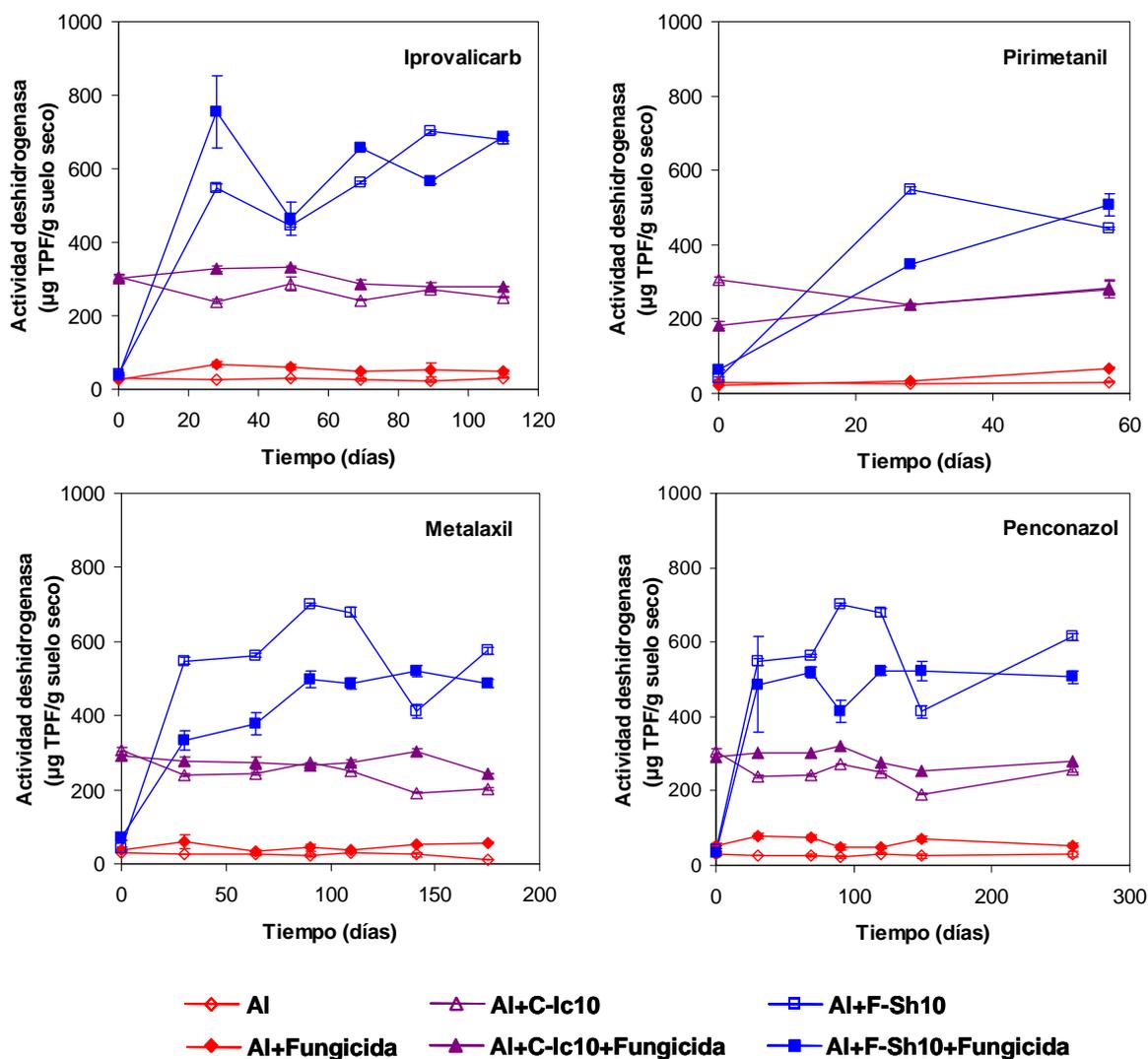


Figura 35. Actividad deshidrogenasa del suelo Al sin enmendar y enmendado con C-Ic y F-Sh, sin fungicida (suelos control) o tratados con el fungicida a los distintos tiempos de incubación. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

La actividad deshidrogenasa aumentó en el mismo orden que aumenta el contenido en CO de los suelos (mayor en el suelo enmendado con F-Sh), lo cual corrobora la influencia del contenido en CO en esta actividad enzimática del suelo. La mayor actividad microbiana en el suelo enmendado con F-Sh podría asociarse a la degradación de compuestos orgánicos más lábiles aportados por la propia enmienda como COD. Esta estimulación de la biodegradación podría ser también un factor adicional, además de la adsorción, para explicar que la disipación de los fungicidas en este suelo sea más rápida que en el suelo enmendado con el residuo compostado (C-Ic). Delgado-Moreno y Peña (2007) encontraron también valores más elevados para la actividad deshidrogenasa en un suelo enmendado con alperujo fresco que en un suelo enmendado con alperujo compostado o vermicompostado, y lo asociaron a la mayor estabilidad de la MO del residuo compostado y a una reducción de los componentes más lábiles del mismo, capaces de ser degradados por los microorganismos, tras el proceso de compostaje.

Los valores de la actividad deshidrogenasa obtenidos al comienzo del experimento fueron significativamente más altos para los suelos Al (LSD= 5.36, $p < 0.01$) y Al+C-Ic10 (LSD= 19.5, $p < 0.01$), que aquellos determinados en tiempos de incubación posteriores, que se mantuvieron prácticamente constantes e indicaron una estabilización de la actividad microbiana. Los suelos Al y Al+C-Ic10 tenían contenidos en CO que no variaron significativamente durante el período de 12 meses de incubación (Tabla 13). Sin embargo, el suelo Al+F-Sh10 presentó valores para la actividad deshidrogenasa similares a los del suelo sin enmendar al inicio del período de incubación, y después de 30 días de incubación presentó unos valores mucho más elevados (LSD= 17.8, $p < 0.01$), manteniéndose estos valores a lo largo del período de incubación del suelo enmendado con este residuo. Estos resultados podrían indicar que la incorporación al suelo de este residuo requiere un tiempo de adaptación para que los microorganismos del suelo sean capaces de activarse y utilizar la enmienda como fuente de carbono y/o nitrógeno.

También los valores de la actividad deshidrogenasa en los suelos tratados con los fungicidas fueron, en general, significativamente más elevados que en los no tratados, tanto para los suelos sin enmendar (LSD= 14.1, $p < 0.05$ para iprovalicarb, LSD= 6.77, $p < 0.05$ para pirimetanil, LSD= 13.3, $p < 0.05$ para metalaxil y LSD= 12.0, $p < 0.05$ para penconazol) como para los suelos Al+C-Ic10 y Al+F-Sh10 para iprovalicarb (LSD= 18.1 y 69.9, $p < 0.05$) y pirimetanil (LSD= 31.9 y 31.5, $p < 0.05$), o para el suelo Al+C-Ic10 para metalaxil (LSD= 16.0, $p < 0.05$) y penconazol (LSD=14.6, $p < 0.05$). Esto indicaría que la adición del fungicida al suelo estimula la actividad microbiana del mismo. Este efecto ha sido también observado para otros fungicidas en suelos enmendados con restos vegetales (Chen y col., 2001), para diurón en suelos enmendados con orujo gastado de uva (Romero y col., 2010), o para tebuconazol en suelos enmendados con SMS (Herrero-Hernández y col., 2011b), pero no se observó para linurón en suelos enmendados con serrín de maderas (Grenni y col., 2009) o para clorpirifos en suelos enmendados con diferentes residuos orgánicos (Kadian y col., 2010). Chen y col. (2001) indicaron la capacidad de

los fungicidas para inhibir o estimular ciertos grupos de microorganismos en los suelos basándose en que el efecto inhibitorio de algunos grupos de hongos conduciría a una reducción en la actividad microbiana (o reducción de la actividad deshidrogenasa), pero los microorganismos muertos o el mismo fungicida podrían servir para estimular otros organismos vivos, conduciendo rápidamente a un incremento de la actividad bacteriana del suelo. Estos autores indicaron que la influencia de los fungicidas en los procesos microbianos del suelo depende, además, de muchos factores, tales como las propiedades físicas, químicas y bioquímicas del suelo, de la naturaleza y concentración de los fungicidas aplicados, y del momento de su aplicación.

En el suelo enmendado con F-Sh y tratado con metalaxil o penconazol, la actividad deshidrogenasa disminuyó significativamente con respecto al suelo control (sin fungicida) (LSD=33.5, $p < 0.05$ y LSD= 79.8, $p < 0.05$, respectivamente), indicando que en este caso la adición del fungicida al suelo tuvo un cierto efecto tóxico para los microorganismos del suelo e inhibió ligeramente la actividad deshidrogenasa del suelo. Este efecto fue más significativo en el caso del metalaxil y podría estar relacionado con la cinética de mineralización de este fungicida más lenta, en el suelo enmendado con F-Sh que en el suelo enmendado con C-Ic.

3.4. ESTUDIO DE LA MOVILIDAD DE FUNGICIDAS EN SUELOS DE PARCELAS EXPERIMENTALES SIN ENMENDAR Y ENMENDADOS CON LOS RESIDUOS POSTCULTIVO DE HONGOS. APLICACIÓN DEL MODELO MATEMÁTICO PRZM

Se estudió la movilidad de dos fungicidas en columnas de suelo de viñedos sin alterar tomadas *in situ* en parcelas experimentales situadas en Aldeanueva de Ebro (Al), Sajazarra (SA) y Viana (V) (La Rioja), sin enmendar y enmendadas con dos residuos, uno compostado (C-Ag) y otro sin compostar (F-Ag), procedentes del cultivo de *Agaricus bisporus*. Para el estudio, se seleccionaron los fungicidas metalaxil y penconazol, por presentar propiedades muy diferentes. Los ensayos de movilidad se llevaron a cabo inmediatamente después de su incorporación a las columnas, y después de un período de incubación o envejecimiento en las mismas. Los ensayos se realizaron por duplicado para todos los suelos y tratamientos estudiados, y el lavado de los fungicidas se realizó en condiciones de flujo no saturado, que son las condiciones en las que normalmente tiene lugar este proceso en el suelo. Se obtuvieron las curvas de lixiviación de los fungicidas, la distribución del fungicida residual en las columnas de suelo después del lavado, y se modelizó su comportamiento utilizando el modelo matemático PRZM.

3.4.1. Movilidad de metalaxil en columnas de suelo

Las curvas de lixiviación de metalaxil con agua en las columnas de los suelos sin enmendar (Al, SA y V) y enmendados con los residuos C-Ag y F-Ag se muestran en la Figura 36, donde se representan las cantidades de metalaxil lixiviado, expresadas como porcentajes de la cantidad total aplicada, frente al volumen de agua lixiviada (mL). En las gráficas se incluyen las curvas de lixiviación del fungicida en los suelos, inmediatamente después de su aplicación (no incubados) y después de un proceso de envejecimiento de 77 días en condiciones de humedad y temperatura ambiental (incubados), junto con las curvas de lixiviación del ión trazador cloruro (Cl⁻) para las columnas de suelo no incubadas. Se observa, en principio, un retraso en las curvas de lixiviación del metalaxil con respecto a las curvas de lixiviación del ión trazador. Dado que el ión conservativo sólo describe el movimiento del agua en el suelo y no presenta ningún tipo de retención ni degradación en el mismo, cabe pensar que el desplazamiento de las curvas de lixiviación del metalaxil respecto a las del ión Cl⁻ pueda ser debido al establecimiento de algún tipo de interacción del fungicida con los componentes del suelo en el transcurso de su lavado, y no al flujo del agua (Sánchez y col., 2003b).

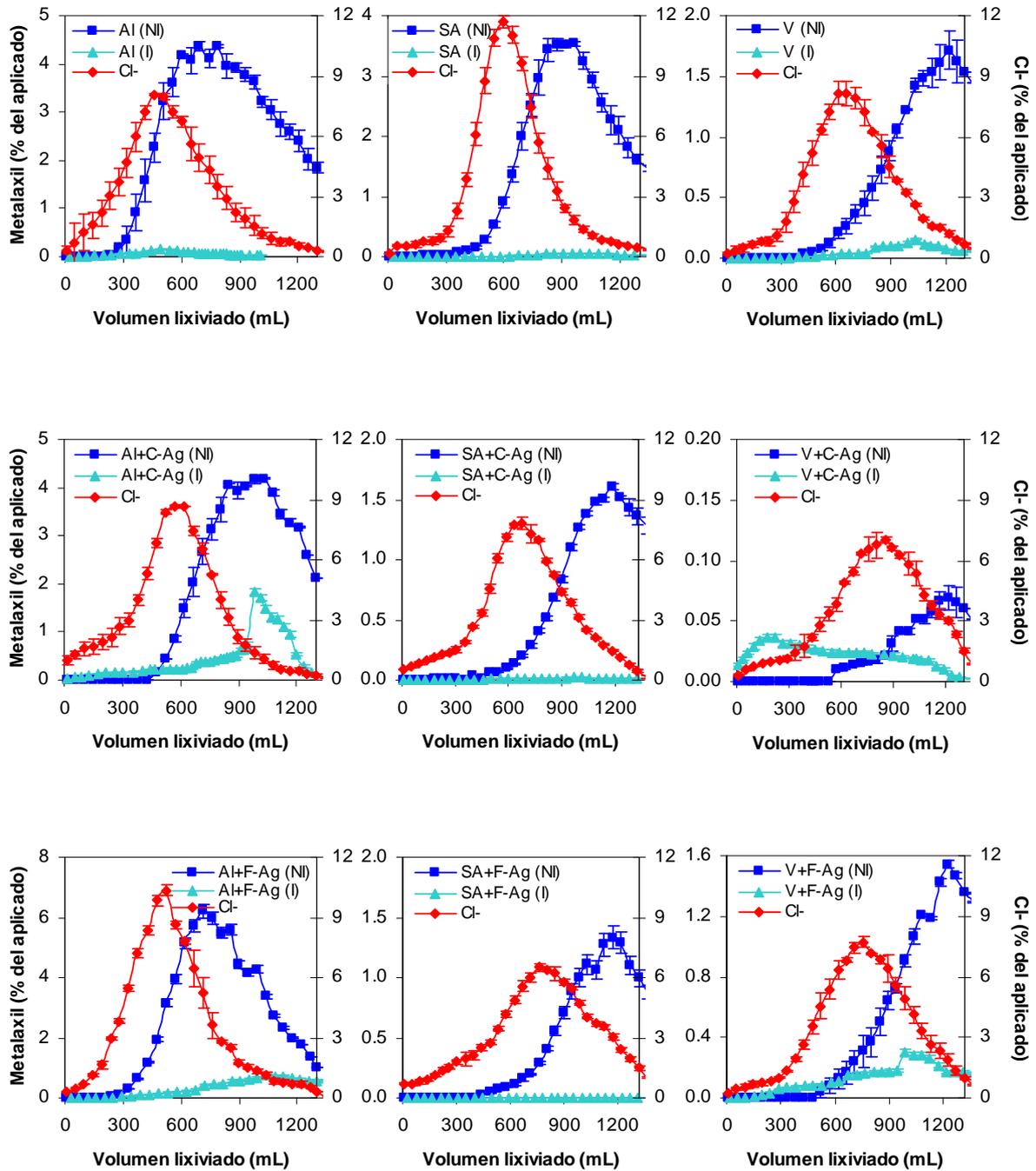


Figura 36. Curvas de lixiviación para el metaxil y el ión Cl⁻ no incubados (NI) e incubados (I) en suelos sin enmendar (AI, SA y V) y enmendados con C-Ag y F-Ag. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Las curvas de lixiviación del ión Cl^- deberían alcanzar un pico máximo aproximadamente a 1 volumen de poro (VP), ya que es lo que generalmente se espera en la percolación de iones conservativos. Sin embargo, estas curvas mostraron diferencias en la posición del pico máximo y la forma del perfil de lixiviación del Cl^- en las columnas de suelo sin distorsionar para los tres suelos estudiados. El VP del pico máximo varió entre 0.95 y 2.19, siendo más alto para los suelos enmendados (Tabla 20). Estos desplazamientos del pico máximo del Cl^- indicaron que el movimiento de agua bajo condiciones no saturadas, no fue totalmente regular en todas las columnas de suelo estudiadas. Diferencias en el transporte del ión trazador en columnas de suelo han sido indicadas por otros autores. Vincent y col. (2007) sugirieron un ligero grado de transporte físico en condiciones de no equilibrio del ión trazador Br^- en columnas de suelo sin distorsionar tomadas en suelos naturales y cultivados. Por otro lado, Sharma y Taniguchi (1991) indicaron un efecto de histéresis del ión trazador Br^- para justificar las diferencias observadas en el movimiento del ión trazador en una columna de suelo franco-arenoso bajo un flujo de agua intermitente.

Las curvas de lixiviación de metalaxil en todas las columnas de suelo bajo condiciones de flujo de agua no saturado presentan una forma ancha y asimétrica con una cola final, indicando una lenta e incompleta lixiviación del fungicida al final del experimento. Curvas similares se han obtenido también para otros pesticidas en suelos estructurados con un sistema de poro diferente cuando se establece un cierto grado de interacción pesticida-suelo (Beck y col., 1993).

Las curvas obtenidas mostraron un retraso con respecto a las curvas de lixiviación del ión trazador en todos los suelos (0.61-1.36 VP y 0-1.98 VP en las columnas de suelo no incubadas e incubadas, respectivamente) y un mayor grado de asimetría que las del ión Cl^- . Estas curvas mostraron en las columnas de suelo sin enmendar y enmendado con F-Ag la aparición de metalaxil en los lixiviados para un $\text{VP} < 1$, indicando la existencia de algún flujo preferencial que facilita el lavado del compuesto en las columnas. En cambio, las curvas de lixiviación obtenidas en las columnas de suelo enmendado con C-Ag indicaron la presencia del fungicida en el agua de lavado para volúmenes próximos a 1 VP (0.90 VP para Al y 0.96 VP para V), excepto para el suelo SA (0.25 VP), lo cual indica que no se manifiesta la presencia de flujos preferenciales como en los suelos sin enmendar y enmendados con F-Ag. La enmienda con el residuo compostado debe mejorar la estructura del suelo facilitando el desplazamiento más uniforme del agua, mientras que la enmienda con el residuo sin compostar no parece mejorar, en principio, la estructura del suelo respecto al suelo sin enmendar.

El pico de la concentración máxima del fungicida se encontró en las columnas de suelo no enmendado después de la aplicación de un volumen de agua a las columnas entre 700 y 1000 mL correspondientes a un $\text{VP} > 1$ (1.60 (Al), 3.12 (SA), y 1.88 (V) VP) (Tabla 20). La concentración máxima del metalaxil lixiviado osciló en un rango entre 1.71% y 4.37% de la cantidad de fungicida aplicado inicialmente a las columnas, lo cual está de acuerdo con la adsorción en mayor o menor grado por los suelos Al, SA y V, ya indicada en el Apartado 3.2.1 de esta Memoria (Tabla 8).

Tabla 20. Volumen de poro y concentración del pico máximo para el ión conservativo Cl⁻ y el metalaxil no incubados e incubados en columnas de suelos sin enmendar y enmendados con los residuos C-Ag y F-Ag

Suelo	Pico máximo Cl ⁻		Pico máximo metalaxil	
	Volumen de poro ^a	Concentración ^b	Volumen de poro	Concentración
Columnas de suelo no incubadas				
Al	1.06±0.06	8.08±0.05	1.60±0.05	4.37±0.13
Al+C-Ag	1.08±0.06	8.64±0.09	1.96±0.06	4.19±0.03
Al+F-Ag	1.13±0.08	10.4±0.09	1.53±0.05	6.21±0.78
SA	1.83±0.03	11.7±0.43	3.12±0.06	3.53±0.04
SA+C-Ag	1.77±0.14	7.82±0.42	3.08±0.25	1.60±0.35
SA+F-Ag	2.11±0.07	6.50±0.24	3.47±0.11	1.33±0.14
V	0.95±0.05	8.19±1.83	1.88±0.05	1.71±0.23
V+C-Ag	1.43±0.04	7.02±1.17	2.04±0.07	0.07±0.01
V+F-Ag	1.48±0.02	7.70±0.38	2.40±0.04	1.54±0.14
Columnas de suelo incubadas				
Al	0.81±0.03	5.65±0.06	0.81±0.04	0.15±0.05
Al+C-Ag	0.80±0.02	5.32±0.09	1.94±0.09	1.83±0.08
Al+F-Ag	0.70±0.03	8.27±0.15	2.48±0.10	0.74±0.03
SA	1.41±0.05	7.55±0.13	2.75±0.03	0.06±0.01
SA+C-Ag	1.34±0.03	6.25±0.08	3.32±0.12	0.02±0.00
SA+F-Ag	1.46±0.04	8.60±0.23	2.82±0.05	0.01±0.00
V	0.99±0.03	6.07±0.18	1.94±0.04	0.16±0.02
V+C-Ag	1.00±0.02	6.01±0.31	-	-
V+F-Ag	2.19±0.08	6.02±0.07	3.23±0.04	0.30± 0.04

^a Relación entre el volumen lixiviado y el volumen de poro de la columna

^b Expresada como porcentaje de la cantidad de Cl⁻ o fungicida total aplicado

En los suelos enmendados, los picos de concentración máxima de la curva de lixiviación del metalaxil aparecieron para volúmenes de agua similares o más elevados que para los suelos sin enmendar, y las concentraciones máximas oscilaron entre 0.07%-4.19% y entre 1.33%-6.21% de la cantidad aplicada inicialmente para los suelos enmendados con C-Ag y F-Ag, respectivamente (Tabla 20). La concentración del pico máximo en los suelos enmendados con C-Ag disminuyó con respecto a los suelos sin enmendar (hasta 24 veces en el suelo V). Sin embargo, la concentración del pico máximo en los suelos enmendados con F-Ag solamente disminuyó en los suelos V y SA, mientras que en el suelo Al esta concentración aumentó 1.4 veces después de la adición del F-Ag.

Estos resultados están de acuerdo con el incremento en la adsorción del metalaxil por los suelos de las parcelas experimentales Al, SA y V enmendados con los residuos C-Ag y F-Ag como indican los valores de las constantes de adsorción K_f obtenidas mediante la técnica *batch* en el equilibrio por Marín-Benito y col. (2009) e incluidas en la Tabla 21. Los resultados también indicaron que el residuo F-Ag aumentó la lixiviación del fungicida en las columnas de suelo con respecto al C-Ag. El contenido en COD, más elevado en el F-Ag que en el C-Ag (Tabla 1), podría disminuir la adsorción del fungicida por el suelo como se ha discutido en el Apartado 3.2.2 de esta Memoria, favoreciendo la lixiviación del fungicida (Andrades y col., 2004; Li y col., 2005).

Los valores de los factores de retardo R_f calculados para la lixiviación del metalaxil en los suelos sin enmendar y enmendados (Tabla 21), utilizando la expresión $R_f = 1 + K_f \rho / \theta$ citada en la Introducción de esta Memoria, están en concordancia con los valores de los VP correspondientes a los picos máximos ($r = 0.90$, $p < 0.001$). Los valores de R_f más altos se encontraron para la lixiviación del metalaxil en suelos enmendados con un contenido más elevado en CO y mayor capacidad de adsorción. Sin embargo, no existe relación significativa entre los factores R_f y las constantes de adsorción K_f o el contenido en CO, indicando que otros factores relacionados con la estructura de los suelos, además del contenido en CO, deben influir en la movilidad del metalaxil.

Tabla 21. Parámetros de las columnas de suelo, constantes de adsorción (K_f), y factores de retardo (R_f) de metalaxil en suelos sin enmendar y enmendados con los residuos C-Ag y F-Ag

Suelo	Peso suelo (g)	VP (mL)	ρ (g cm ⁻³)	θ (cm ³ cm ⁻³)	K_f	R_f
Al	3583	435	1.408	0.171	0.26	3.14
Al+C-Ag	3548	527	1.395	0.207	0.29	2.95
Al+F-Ag	3703	465	1.456	0.183	0.34	3.71
SA	3401	310	1.337	0.122	0.36	4.95
SA+C-Ag	3456	385	1.359	0.151	0.47	5.22
SA+F-Ag	3568	355	1.403	0.140	0.40	5.01
V	3013	650	1.184	0.256	0.54	3.50
V+C-Ag	2561	600	1.007	0.235	0.67	3.86
V+F-Ag	3053	510	1.200	0.200	0.60	4.59

Las cantidades totales de fungicida lixiviado y las cantidades residuales en las columnas después de la lixiviación, expresadas como porcentajes de la cantidad inicialmente añadida, se incluyen en la Tabla 22. La lixiviación del metalaxil después de la adición de un volumen de agua de 1500 mL no fue completa en ningún suelo, pero las cantidades lixiviadas más elevadas se encontraron, en general, en los suelos sin enmendar (Al (71.9%) > SA (46.1%) > V (22.0%)) y en los suelos enmendados con F-Ag (Al (74.3%) > V (17.8%) > SA (15.1%)). Las mayores cantidades residuales totales de fungicida se determinaron en los suelos enmendados con C-Ag (V (67.6%) > Al (23.0%) > SA (17.2%)). La naturaleza más uniforme del C-Ag con respecto al F-Ag (Asociación Española de Cultivadores de Champiñón, 2007) daría lugar a una variabilidad menor en la adsorción por los suelos enmendados con C-Ag que por los suelos enmendados con F-Ag (Marín-Benito y col., 2009). Esta observación, junto con el mayor contenido en COD de F-Ag, que contribuye a incrementar la lixiviación del fungicida, podría explicar los resultados obtenidos.

La distribución de metalaxil en las columnas de suelo sin enmendar y enmendado se muestra en la Figura 37. El suelo V presentó mayor retención del fungicida en la parte superior de la columna (0-8 cm), especialmente en los suelos enmendados con C-Ag (8 veces mayor que en el suelo sin enmendar), mientras que las cantidades de fungicida retenido en los suelos SA y Al aumentaron con la profundidad del suelo. Esto está de acuerdo con la baja concentración del pico máximo encontrada para el suelo V, sin enmendar y enmendado, e indica de nuevo la influencia del proceso de adsorción en la lixiviación del fungicida, estando inversamente relacionados ambos procesos (Sharma y Awasthi, 1997). Otros autores han encontrado un descenso en la movilidad de metalaxil en suelos enmendados con turba y con residuos orgánicos procedentes de la industria de la producción de vino o del aceite de oliva (Petrovic y col., 1996; Andrades y col., 2004; Fernandes y col., 2006).

Las curvas de lixiviación del metalaxil después de 77 días de incubación en los suelos sin enmendar y enmendados se incluyen en la Figura 36. También se obtuvieron en estas condiciones las curvas de lixiviación del ión Cl^- , aunque no se incluyen en esta Memoria por ser prácticamente idénticas a las obtenidas en los suelos no incubados (Tabla 20). Las curvas de lixiviación del metalaxil después del período de incubación se retrasaron más y mostraron un mayor grado de asimetría con respecto a las curvas de lixiviación del ión trazador que aquellas obtenidas en las columnas de suelo no incubadas. Las curvas indicaron que el lavado de metalaxil se produjo de forma muy lenta, pero prácticamente desde el comienzo del proceso de lixiviación tras la aplicación de 0.04-0.07 VP (Al), 0.07-1.49 VP (SA) y 0.02-0.07 VP (V), y mostraron un acusado descenso en la lixiviación del fungicida en todas las columnas de suelo. Los valores de los VP correspondientes a los picos máximos fueron menores, similares o mayores que los correspondientes a las curvas obtenidas en las columnas de suelo no incubadas, aunque las concentraciones de pico máximo siempre disminuyeron (representando 0.15%-1.83% (Al), 0.01%-0.06% (SA) y 0.16%-0.30% (V) de la cantidad inicialmente aplicada) o incluso, algunas curvas no mostraron un pico máximo bajo condiciones de flujo no saturado (suelo V+C-Ag) (Tabla 20).

Tabla 22. Cantidades totales (retenidas y lixiviadas) de metalaxil y sus metabolitos en columnas, sin incubar e incubadas, de suelos sin enmendar y enmendados con C-Ag y F-Ag

Suelo	Metalaxil		Metabolito 1		Metabolito 2	
	Retenido (%) ^a	Lixiviado (%) ^a	Retenido (mg)	Lixiviado (mg)	Retenido (mg)	Lixiviado (mg)
Columnas de suelo no incubadas						
Al	17.1±4.94	71.9±3.31	0.02±0.00	0.21±0.02	0.02±0.00	0.08±0.00
Al+C-Ag	23.0±0.30	58.8±2.07	0.02±0.01	0.47±0.14	0.03±0.01	0.11±0.01
Al+F-Ag	8.60±0.25	74.3±2.76	0.06±0.02	0.27±0.01	0.01±0.00	0.07±0.00
SA	6.59±0.59	46.1±0.63	0.03±0.00	1.22±0.24	0.01±0.00	0.11±0.00
SA+C-Ag	17.2±0.61	19.5±4.32	0.05±0.01	0.64±0.07	0.02±0.01	0.07±0.02
SA+F-Ag	12.1±0.68	15.1±1.01	0.05±0.01	0.25±0.01	0.02±0.00	0.04±0.00
V	39.5±1.39	22.0±0.03	0.05±0.01	0.58±0.07	0.01±0.00	0.09±0.01
V+C-Ag	67.6±8.62	0.81±0.09	0.04±0.01	0.17±0.02	0.02±0.00	0.04±0.01
V+F-Ag	42.7±1.61	17.8±0.32	0.05±0.01	0.52±0.12	0.01±0.00	0.09±0.00
Columnas de suelo incubadas						
Al	1.13±0.05	2.09±0.08	0.03±0.00	1.33±0.21	0.08±0.02	0.06±0.00
Al+C-Ag	18.5±0.21	20.4±0.51	0.06±0.01	1.27±0.16	0.08±0.01	0.10±0.01
Al+F-Ag	12.8±0.07	11.5±0.63	0.00±0.00	0.13±0.03	0.08±0.02	0.02±0.00
SA	0.45±0.03	0.63±0.06	0.03±0.00	1.47±0.09	0.06±0.01	0.06±0.00
SA+C-Ag	0.63±0.06	0.29±0.05	0.00±0.00	1.23±0.14	0.06±0.00	0.05±0.01
SA+F-Ag	0.32±0.01	0.05±0.01	0.00±0.00	1.34±0.06	0.08±0.03	0.04±0.01
V	2.96±0.14	1.58±0.05	0.12±0.02	0.97±0.03	0.11±0.01	0.12±0.02
V+C-Ag	30.7±3.91	0.69±0.02	0.16±0.05	0.19±0.01	0.06±0.01	0.01±0.00
V+F-Ag	1.28±0.02	4.22±0.12	0.12±0.03	0.69±0.21	0.06±0.01	0.04±0.00

^a Porcentaje de la cantidad de fungicida total aplicado

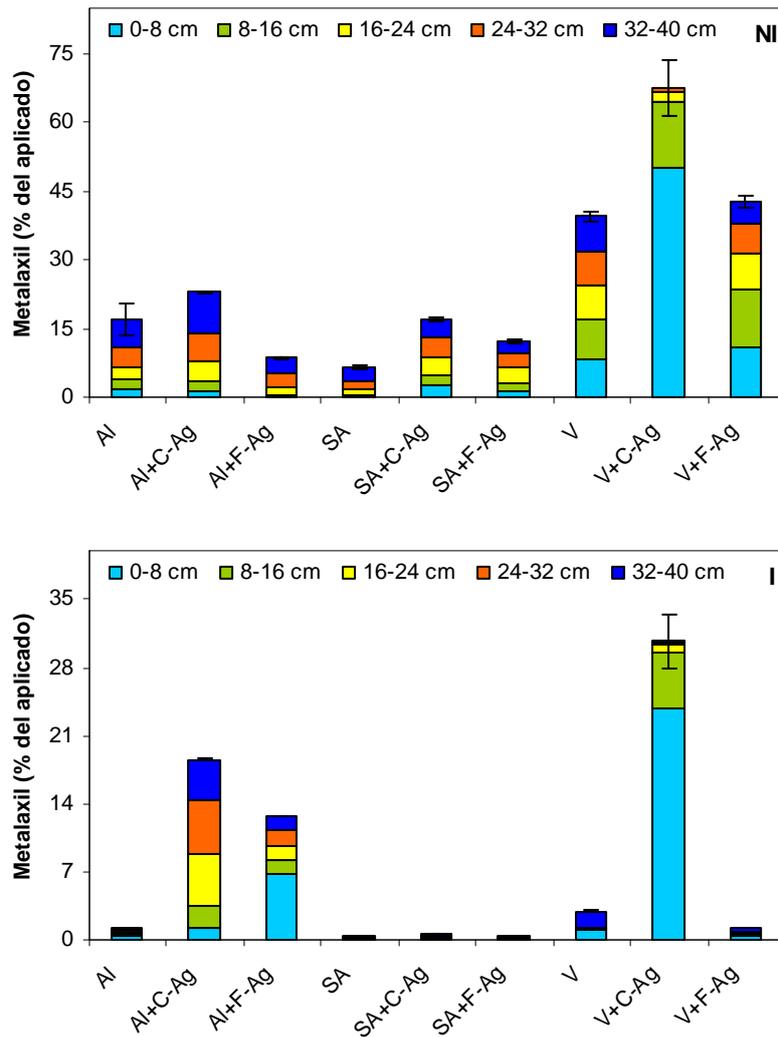


Figura 37. Cantidades de metalaxil retenidas en columnas, no incubadas (NI) e incubadas (I), de suelos sin enmendar (AI, SA y V) o enmendados con C-Ag y F-Ag. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

Las cantidades totales de metalaxil lixiviado en las columnas incubadas de los suelos sin enmendar y enmendados variaron en los rangos 2.09%-20.4% (AI), 0.05%-0.63% (SA) y 0.69%-4.22% (V) de la cantidad aplicada (Tabla 22). En todos los casos, disminuyeron considerablemente con respecto a las columnas no incubadas, y siempre se obtuvieron las menores cantidades lixiviadas en el suelo de Sajazarra. Las cantidades residuales de fungicida en las columnas de suelo, después de la lixiviación, oscilaron en los rangos 1.13%-18.5% (AI), 0.32%-0.63% (SA) y 1.28%-30.7% (V) de la cantidad inicialmente aplicada, siendo también menores estas cantidades que las obtenidas en condiciones de no incubación, correspondiendo los valores más elevados a los suelos enmendados con C-Ag.

La Figura 37 muestra la distribución de metalaxil en los distintos segmentos de las columnas, observándose para algunas una disminución del metalaxil retenido con la profundidad de la misma. El suelo V+C-Ag incubado presentó la cantidad más alta de fungicida retenido en el tramo superficial de la columna, igual que en el suelo no incubado (22 veces mayor que en el suelo sin enmendar).

La cantidad total de fungicida retenido y lixiviado fue < 100% para los suelos sin enmendar y enmendados. Esta cantidad osciló entre 27.2% y 89.0% en suelos no incubados y disminuyó a 0.37%-38.9% después de la incubación, siendo mayor en los suelos+C-Ag (Tabla 22). Este bajo balance total indica que el fungicida podría ser degradado, mineralizado o inmovilizado (residuos enlazados) durante el tiempo de contacto con los suelos (30 y 107 días para los suelos no incubados e incubados, respectivamente), como se ha indicado en el estudio de degradación de ¹⁴C-metalaxil incluido en el Apartado 3.3.2 de esta Memoria. Algunos autores han indicado también la dependencia de la adsorción de los pesticidas por suelos con el tiempo de incubación (Walker y col., 2005; Mamy y Barriuso, 2007; Regitano y Koskinen, 2008), pudiendo tener lugar un descenso en la recuperación del compuesto al aumentar el período de incubación, debido a una mayor adsorción del fungicida por los principales componentes del suelo (MO y arcilla) formando residuos fuertemente enlazados o envejecidos (Semple y col., 2004; Walker y col., 2005) no extraíbles por los métodos habituales de extracción de estos compuestos.

La hipótesis de la degradación del metalaxil fue apoyada por la detección de los dos metabolitos del metalaxil, ya indicados en el Apartado 3.3.1 de esta Memoria, en las muestras lixiviadas y en los extractos de suelo: metabolito 1 (2-[(2,6-dimetilfenil)-metoxiacetilamino]-propiónico) y metabolito 2 (N-(2,6-dimetilfenil)-2-metoxiacetamida). Como ya se ha indicado en el Apartado 3.3.1, el metalaxil debe ser degradado por microorganismos en el suelo formando principalmente el metabolito ácido (metabolito 1). Un segundo metabolito (metabolito 2) se forma directamente a partir del metalaxil o a partir del metabolito 1 (Pesaro y col., 2004). Las curvas de lixiviación acumuladas de ambos metabolitos, en las columnas de suelo sin incubar e incubadas, se muestran en la Figura 38. En general, ambos metabolitos tuvieron una tendencia de lixiviación similar, pero el metabolito 1 fue detectado en cantidades mayores que el metabolito 2, tanto en las muestras lixiviadas como en los extractos del suelo. El metabolito 2 se comportó de igual modo que el metabolito 1, sugiriendo que el metabolito 2 deriva principalmente de la degradación del metabolito 1.

Ambos metabolitos aparecieron en mayores cantidades en el suelo SA en las columnas de suelo no incubadas e incubadas, lo que explica que el balance total de metalaxil en este suelo sea bajo al final del experimento. Este comportamiento del fungicida en el suelo SA podría explicarse teniendo en cuenta que se observó una relación negativa entre la cantidad total de metabolito 1 lixiviado y el contenido volumétrico de agua de las columnas de suelo, debido a que el suelo SA presentó el valor de VP más bajo. El bajo valor de VP del suelo SA es debido al alto porcentaje de

gravas (> 30%) que se encontró en este suelo después de la extracción del mismo de las columnas. En consecuencia, el fungicida podría estar más disponible para la degradación en el suelo SA que en las otras columnas de suelo no incubadas debido al menor tiempo de contacto fungicida-suelo (Fernandes y col., 2006).

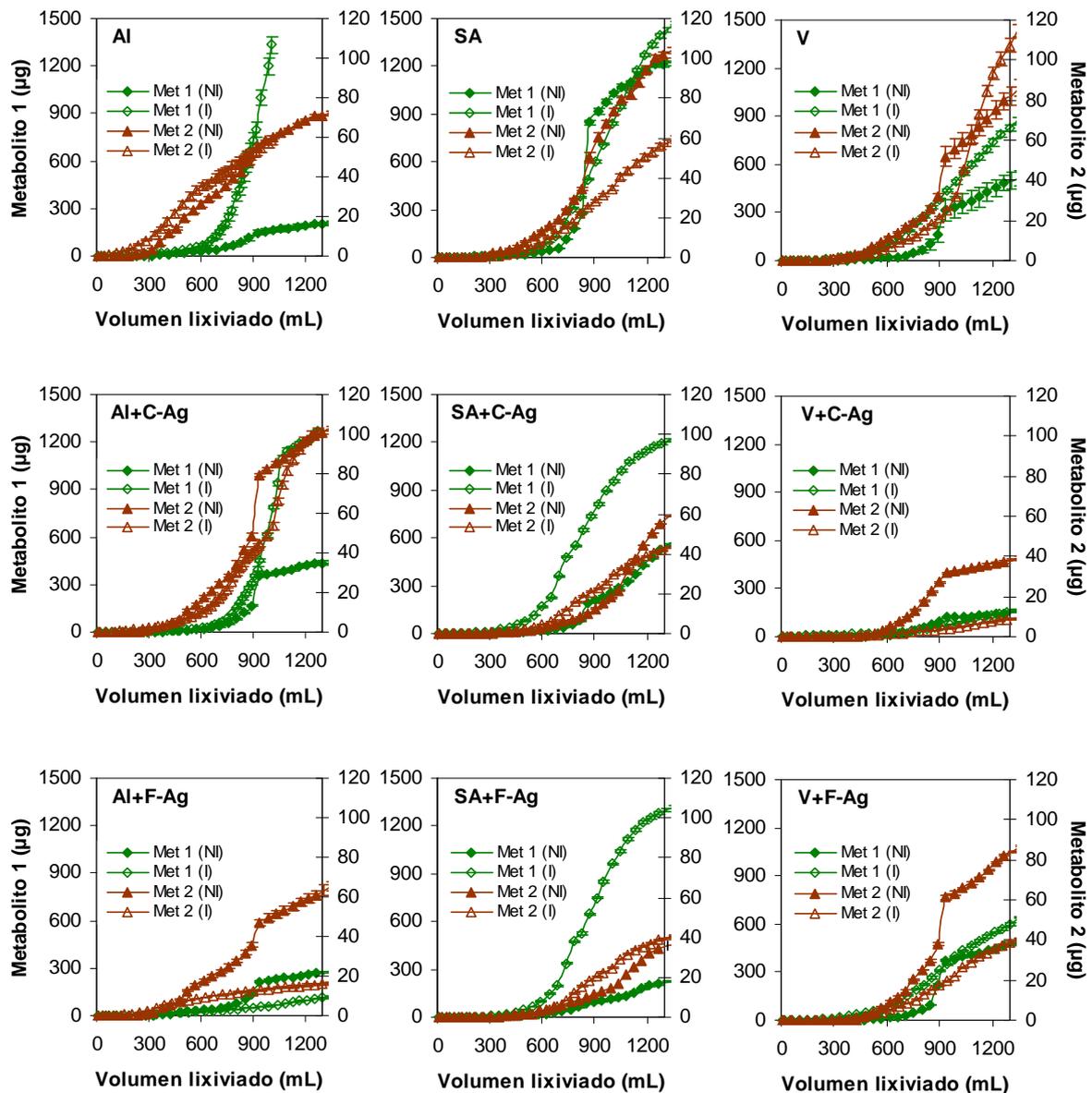


Figura 38. Curvas de lixiviación acumuladas para los metabolitos de metalaxil (metabolito 1 y metabolito 2) en los suelos no incubados (NI) e incubados (I) sin enmendar (AI, SA y V) o enmendados con C-Ag y F-Ag. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

En los suelos enmendados se producen dos efectos opuestos que podrían explicar los resultados obtenidos. Por una parte las enmiendas, con su aporte de nutrientes y materia orgánica, podrían estimular el crecimiento microbiano y por lo tanto, el proceso de biodegradación; pero por otra, podrían favorecer la adsorción impidiendo la degradación. Se observó que las cantidades de metabolito 1 lixiviadas de las columnas de suelo después de la incubación fueron mayores que las de las columnas de suelo sin incubar (Tabla 22), indicando que el mayor tiempo de residencia del pesticida en las columnas de suelo aumentó la probabilidad de degradación (biológica o química) del fungicida, ligeramente adsorbido en todos los suelos. Los resultados de lixiviación del metalaxil en los suelos confirman la influencia de los procesos de adsorción y degradación en la movilidad del fungicida en las columnas de suelo.

3.4.2. Movilidad de penconazol en columnas de suelo

El penconazol no se detectó en los lixiviados de las columnas de suelo sin enmendar o enmendado después de la aplicación de 1500 mL de agua (2.2-4.9 VP dependiendo del suelo) en condiciones de flujo no saturado. Sólo se detectó a muy bajas concentraciones (0.01%-0.39% del fungicida inicialmente aplicado) en los lixiviados de las columnas de suelo incubadas (Tabla 23). Esta inmovilización del fungicida se justifica por su elevada adsorción por los suelos AI, SA y V como ya se ha indicado en el Apartado 3.2.1 de esta Memoria (Tabla 8). Singh (2005) también indicó la ausencia de penconazol en los lixiviados en suelos de la India con bajo contenido en CO en un estudio de movilidad de fungicidas triazólicos.

Las cantidades totales de fungicida retenido en las columnas de suelos sin enmendar y enmendados, expresadas como porcentajes de la cantidad inicialmente añadida, se incluyen en la Tabla 23, y la distribución de penconazol en las columnas de suelo se muestra en la Figura 39. Las cantidades de fungicida retenido disminuyeron con la profundidad del suelo, indicando una mayor retención de penconazol en el tramo más superficial (0-8 cm) (> 60% del fungicida aplicado en suelos no incubados y > 75% en suelos incubados). Para los suelos sin enmendar, la retención en el tramo más superficial siguió el orden V > SA > AI, de acuerdo con el contenido en CO de estos suelos y los resultados de adsorción del fungicida por los mismos (Tabla 8). En los suelos no incubados V+F-Ag y SA+F-Ag, las cantidades de penconazol retenidas en el tramo más superficial fueron menores que en los suelos no enmendados, y mayores en las capas más profundas.

La cantidad total de fungicida retenido en los suelos fue $\geq 100\%$ para las columnas incubadas y, en general, $< 100\%$ para las columnas no incubadas (Tabla 23). Cuando el balance total fue menor del 100%, cabe pensar que el fungicida podría haber quedado retenido en el suelo de forma irreversible, no pudiendo ser extraído por los procedimientos habituales de extracción, formando residuos enlazados. También cabe la posibilidad de que el fungicida pudiera ser degradado y/o mineralizado, aunque no se detectaron productos de degradación en los extractos

de suelo y la mineralización fue posiblemente muy baja, como se ha indicado para el suelo Al enmendado con residuos similares (Apartado 3.3.2 de esta Memoria). La retención de penconazol en el suelo no se modificó durante el período de incubación de la columna de suelo, lo que indicaría que el compuesto adsorbido no estaba biodisponible para la degradación microbiana. Estos resultados están de acuerdo con la lenta cinética de disipación encontrada en el estudio de disipación de este fungicida descrito anteriormente (Apartado 3.3.1).

Tabla 23. Cantidades totales (retenidas y lixiviadas) de penconazol en columnas, no incubadas e incubadas, de suelos sin enmendar (Al, SA y V) y enmendados con C-Ag y F-Ag

Suelo	Retenido (%) ^a	Lixiviado (%) ^a
Columnas de suelo no incubadas		
Al	94.9±18.0	nd ^b
Al+C-Ag	108±9.19	nd
Al+F-Ag	111±4.90	nd
SA	80.6±2.74	nd
SA+C-Ag	83.5±3.05	nd
SA+F-Ag	80.1±7.51	nd
V	98.9±4.96	nd
V+C-Ag	93.1±5.91	nd
V+F-Ag	86.7±1.51	nd
Columnas de suelo incubadas		
Al	106±11.3	0.01±0.00
Al+C-Ag	108±2.32	0.08±0.01
Al +F-Ag	107±8.51	0.02±0.00
SA	108±1.86	0.06±0.02
SA+C-Ag	105±6.79	nd
SA+F-Ag	112±19.5	nd
V	96.7±3.55	0.01±0.00
V+C-Ag	107±4.61	0.39±0.11
V+F-Ag	112±8.43	0.33±0.09

^a Porcentaje de la cantidad de fungicida total aplicado

^b nd, no detectado

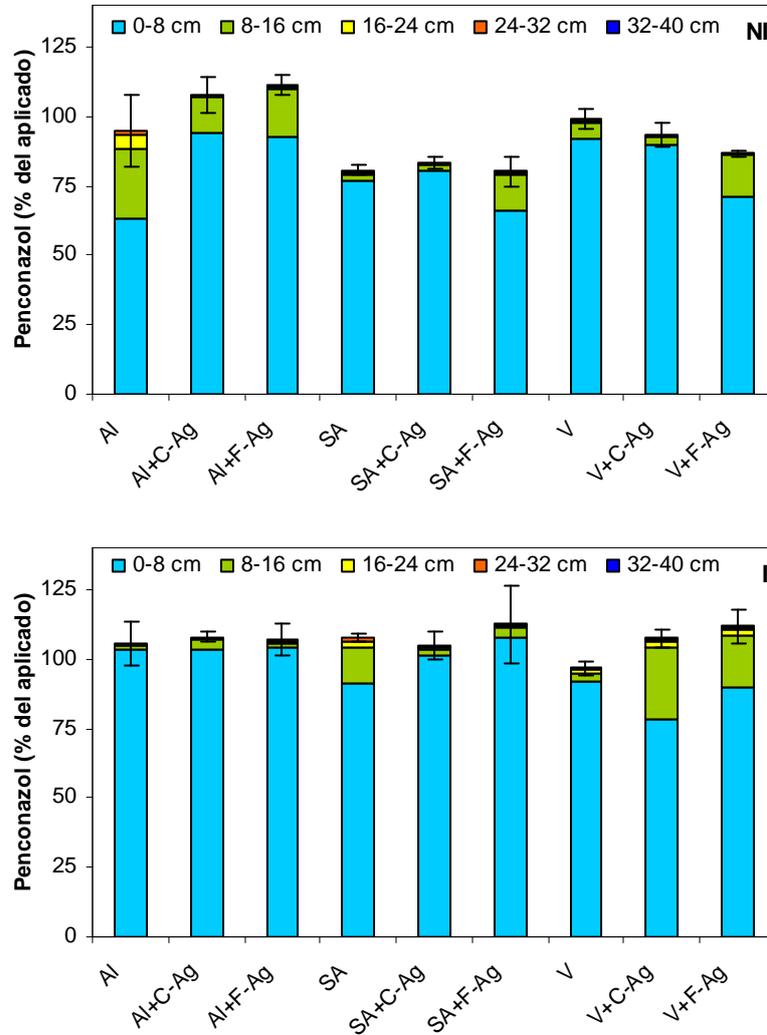


Figura 39. Cantidades de penconazol retenidas en columnas, no incubadas (NI) e incubadas (I), de suelos sin enmendar (AI, SA y V) o enmendados con C-Ag y F-Ag. Las barras de error representan la desviación estándar de la media

3.4.3. Modelización del comportamiento de metalaxil y penconazol en columnas de suelo sin enmendar y enmendado mediante el modelo matemático PRZM

Inicialmente, y antes de modelizar el comportamiento de los fungicidas metalaxil y penconazol, se realizó la modelización del ión trazador Cl^- , tanto en las columnas no incubadas como incubadas, para ajustar correctamente algunos parámetros físicos del modelo y comprobar si era posible obtener una buena simulación de los resultados experimentales mediante el modelo PRZM (Pesticide Root Zone Model) versión 3.12. Los resultados mostraron que el ajuste entre las curvas de lixiviación experimentales obtenidas para el ión Cl^- y las curvas simuladas por el modelo era bueno en general, como indican los parámetros estadísticos ($64 < \text{RMSE} < 112$, $-0.3 < \text{CRM} < 0$). Incluso el desplazamiento de las curvas de lixiviación del ión Cl^- del comportamiento ideal y la anchura de los picos observada experimentalmente fue predicho correctamente por el modelo. En cambio, en algunas columnas de suelo se observó experimentalmente, que el ión Cl^- aparecía en los lixiviados antes que lo predicho por el modelo, indicando la existencia de un pequeño fenómeno de flujo preferencial que no considera el modelo PRZM-3.

Modelización de los resultados de movilidad de metalaxil

Los resultados experimentales obtenidos en el estudio de la movilidad del fungicida menos hidrofóbico, metalaxil, y su metabolito mayoritario (metabolito 1) mostrados en el Apartado 3.4.1, no presentaron una buena correspondencia con aquellos obtenidos mediante la aplicación del modelo matemático PRZM-3. Los índices estadísticos que representan la bondad de ajuste de los resultados modelizados y experimentales no fueron buenos en general ($\text{RMSE} > 120$ y $\text{EF} < 1\%$), tanto para las columnas incubadas como para las no incubadas, cuando no se realizó la calibración de ninguno de los parámetros. Como consecuencia de estos resultados iniciales, se intentó calibrar el modelo con el objetivo de conseguir una mejor descripción de la lixiviación y retención del metalaxil y su metabolito a lo largo de la columna.

Los parámetros que se calibraron fueron: 1) Los tiempos de vida media del metalaxil (DT_{50}) y su metabolito, ya que los valores de DT_{50} del metalaxil utilizados fueron determinados en el laboratorio (Tabla 18) y no en campo. Además, estos valores de DT_{50} correspondían a cinéticas de degradación de metalaxil realizadas en muestras enmendadas con un porcentaje de SMS más elevado que el aplicado en el campo a los suelos en los estudios de movilidad y de características similares pero no iguales. Por otra parte, los valores de DT_{50} utilizados para el metabolito se tomaron de la base de datos FOOTPRINT (2011), y 2) los valores de K_d tanto para el metalaxil como para su metabolito, ya que los valores utilizados para este parámetro fueron determinados

mediante el método *batch* en el equilibrio, cuyo fundamento podría justificar la obtención de valores de K_d mayores que si se determinasen directamente en el campo.

La calibración conjunta de estos parámetros en el modelo no permitió mejorar las predicciones. Esto condujo a calibrar el modelo sólo a través de la calibración de los valores de K_d , puesto que el modelo resultó ser, para el caso particular del metalaxil en estos suelos, más sensible a este parámetro que a los valores de DT_{50} . Los resultados obtenidos mediante la calibración de los valores de K_d , no permitieron obtener una perfecta y simultánea simulación de las curvas de lixiviación y de la distribución del metalaxil y su metabolito a lo largo del perfil del suelo, de las cantidades totales retenidas y lixiviadas, así como unos aceptables índices estadísticos para ambos grupos de columnas. Por este motivo, la calibración de los valores de K_d (Tabla 24) se dirigió, principalmente, hacia la obtención de un buen ajuste entre las cantidades totales determinadas experimentalmente en los lixiviados y retenidas en el suelo, y las simuladas por el modelo. Este hecho en unos casos, y en otros, las bajas concentraciones determinadas para los dos compuestos, principalmente las concentraciones retenidas a lo largo del perfil del suelo, podrían justificar los elevados valores de RMSE obtenidos ($125 < RMSE_{\text{metalaxil}} \text{ medio} < 4930$; $235 < RMSE_{\text{metabolito}} \text{ medio} < 1952$), aunque desde el punto de vista de cantidades totales mejoraron, en general, los resultados obtenidos tras la calibración, tanto para el metalaxil (Tablas 25 y 26) como para su metabolito (Tablas 27 y 28), especialmente en las columnas no incubadas.

Tabla 24. Coeficientes de distribución (K_d) (mL g^{-1}) experimentales y calibrados para la adsorción de metalaxil y el metabolito 1 por suelos superficiales (0-30 cm) (A) y subsuperficiales (30-40cm) (B), no enmendados y enmendados con C-Ag y F-Ag

Suelo	Metalaxil				Metabolito 1			
	Experimentales ^a		Calibrados		Experimentales		Calibrados	
	K_d (A)	K_d (B)	K_d (A)	K_d (B)	K_d (A)	K_d (B)	K_d (A)	K_d (B)
AI	0.190	0.130	0.135	0.120	1.530	1.610	0.025	0.022
AI+C-Ag	0.210	0.150	0.040	0.036	1.660	2.560	0.010	0.009
AI+F-Ag	0.340	0.180	0.135	0.120	1.970	3.370	0.250	0.220
SA	0.260	0.260	0.185	0.240	1.230	0.640	0.052	0.052
SA+C-Ag	0.270	0.280	0.192	0.258	2.200	0.950	0.054	0.056
SA+F-Ag	0.280	0.280	0.199	0.258	2.590	1.240	0.056	0.056
V	0.520	0.280	0.369	0.258	1.040	1.340	0.104	0.056
V+C-Ag	0.570	0.300	0.570	0.300	1.800	1.400	0.114	0.060
V+F-Ag	0.620	0.410	0.135	0.120	1.880	1.430	0.124	0.082

^a Datos experimentales tomados de Marín-Benito y col. (2009)

Tabla 25. Cantidades de metalaxil lixiviadas en el suelo, determinadas experimentalmente (Q_{exp}) y predichas por el modelo PRZM, sin calibrar (Q_{mod}) y calibrado ($Q_{mod\ cal}$), y relación Q_{mod}/Q_{exp} y $Q_{mod\ cal}/Q_{exp}$

Suelo	Q_{exp} (mg)	Q_{mod} (mg)	$Q_{mod\ cal}$ (mg)	Q_{mod}/Q_{exp}	$Q_{mod\ cal}/Q_{exp}$
Columnas de suelo no incubadas					
Al	6.464	2.202	4.465	0.341	0.691
Al+C-Ag	5.108	1.314	8.845	0.257	1.732
Al+F-Ag	7.191	0.042	3.307	0.006	0.460
SA	3.990	0.112	0.643	0.028	0.161
SA+C-Ag	1.326	0.090	0.547	0.068	0.413
SA+F-Ag	1.053	0.042	0.322	0.040	0.306
V	1.546	0.000	0.003	0.000	0.002
V+C-Ag	0.060	0.000	0.000	0.000	0.000
V+F-Ag	1.202	0.000	1.201	0.000	0.999
Columnas de suelo incubadas					
Al	0.209	0.006	0.044	0.028	0.210
Al+C-Ag	1.479	0.002	1.312	0.001	0.887
Al+F-Ag	1.017	0.001	0.441	0.001	0.434
SA	0.059	0.003	0.003	0.049	0.049
SA+C-Ag	0.027	0.003	0.003	0.093	0.093
SA+F-Ag	0.005	0.001	0.001	0.140	0.140
V	0.149	0.000	0.000	0.000	0.000
V+C-Ag	0.068	0.000	0.000	0.000	0.000
V+F-Ag	0.390	0.000	0.080	0.000	0.204

Tabla 26. Concentraciones de metalaxil retenidas en el suelo, determinadas experimentalmente (C_{exp}) y predichas por el modelo PRZM, sin calibrar (C_{mod}) y calibrado ($C_{mod cal}$), y relación C_{mod}/C_{exp} y $C_{mod cal}/C_{exp}$

Suelo	C_{exp} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C_{mod} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C_{mod cal}$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C_{mod}/C_{exp}	$C_{mod cal}/C_{exp}$
Columnas de suelo no incubadas					
Al	3.283	8.778	6.056	2.674	1.845
Al+C-Ag	3.596	9.935	0.598	2.763	0.166
Al+F-Ag	7.048	10.28	6.751	1.459	0.958
SA	2.581	10.91	10.91	4.228	4.228
SA+C-Ag	4.039	11.92	11.52	2.952	2.853
SA+F-Ag	4.686	10.56	10.32	2.254	2.202
V	7.521	10.62	10.95	1.413	1.456
V+C-Ag	8.196	11.18	11.18	1.364	1.364
V+F-Ag	8.692	10.08	9.271	1.160	1.067
Columnas de suelo incubadas					
Al	0.164	5.664	6.483	34.54	39.53
Al+C-Ag	2.874	6.985	6.477	2.430	2.254
Al+F-Ag	1.690	4.636	5.071	2.743	3.001
SA	0.106	6.502	6.502	61.34	61.34
SA+C-Ag	0.126	8.278	8.278	65.70	65.70
SA+F-Ag	0.074	5.419	5.419	73.23	73.23
V	0.583	5.642	6.391	9.678	10.96
V+C-Ag	4.624	7.210	7.862	1.559	1.700
V+F-Ag	0.291	4.521	5.420	15.54	18.63

Tabla 27. Cantidades de metabolito 1 lixiviadas en el suelo, determinadas experimentalmente (Q_{exp}) y predichas por el modelo PRZM, sin calibrar (Q_{mod}) y calibrado ($Q_{mod\ cal}$), y relación Q_{mod} / Q_{exp} y $Q_{mod\ cal} / Q_{exp}$

Suelo	Q_{exp} (mg)	Q_{mod} (mg)	$Q_{mod\ cal}$ (mg)	Q_{mod} / Q_{exp}	$Q_{mod\ cal} / Q_{exp}$
Columnas de suelo no incubadas					
Al	0.201	0.928	0.793	4.617	3.945
Al+C-Ag	0.432	0.693	0.493	1.604	1.141
Al+F-Ag	0.380	0.967	0.142	2.545	0.374
SA	1.211	0.698	0.634	0.576	0.524
SA+C-Ag	0.475	0.446	0.485	0.939	1.021
SA+F-Ag	0.199	0.788	0.693	3.960	3.482
V	0.483	0.408	0.399	0.845	0.826
V+C-Ag	0.144	0.256	0.256	1.778	1.778
V+F-Ag	0.464	0.320	0.543	0.690	1.170
Columnas de suelo incubadas					
Al	1.334	0.677	0.592	0.507	0.444
Al+C-Ag	0.941	0.583	0.785	0.620	0.834
Al+F-Ag	0.120	1.830	0.021	15.25	0.173
SA	1.473	1.800	1.290	1.222	0.876
SA+C-Ag	1.217	1.080	0.766	0.887	0.629
SA+F-Ag	1.320	2.050	1.320	1.553	1.000
V	0.872	0.926	0.292	1.062	0.335
V+C-Ag	0.156	0.752	0.201	4.821	1.288
V+F-Ag	0.641	0.600	0.138	0.936	0.215

Tabla 28. Concentraciones de metabolito 1 retenidas en el suelo, determinadas experimentalmente (C_{exp}) y predichas por el modelo PRZM, sin calibrar (C_{mod}) y calibrado ($C_{mod\ cal}$), y relación C_{mod}/C_{exp} y $C_{mod\ cal}/C_{exp}$

Suelo	C_{exp} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C_{mod} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	$C_{mod\ cal}$ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C_{mod}/C_{exp}	$C_{mod\ cal}/C_{exp}$
Columnas de suelo no incubadas					
Al	0.058	0.304	0.168	5.240	2.900
Al+C-Ag	0.041	0.278	0.015	6.781	0.370
Al+F-Ag	0.113	1.034	0.319	9.151	2.820
SA	0.071	0.679	0.854	9.560	12.03
SA+C-Ag	0.131	0.527	0.393	4.021	3.000
SA+F-Ag	0.109	0.998	1.006	9.162	9.230
V	0.104	1.466	1.170	14.10	11.25
V+C-Ag	0.115	1.115	1.115	9.701	9.700
V+F-Ag	0.105	2.106	1.119	20.06	10.66
Columnas de suelo incubadas					
Al	0.065	2.373	2.489	36.51	38.29
Al+C-Ag	0.106	2.324	1.721	21.92	16.24
Al+F-Ag	0.000	1.513	4.444	-	-
SA	0.064	1.725	2.487	26.95	38.86
SA+C-Ag	0.000	1.365	1.884	-	-
SA+F-Ag	0.000	2.516	3.538	-	-
V	0.191	3.216	3.950	16.84	20.68
V+C-Ag	0.458	2.831	3.315	6.180	7.240
V+F-Ag	0.200	4.529	5.063	22.65	25.32

Teniendo en cuenta la baja adsorción del metalaxil y las cantidades de este fungicida detectadas en los lixiviados de las columnas, era quizás más importante modelizar correctamente la lixiviación que la retención y, atendiendo a esta necesidad se mejoró considerablemente en muchos casos la modelización de las cantidades totales lixiviadas con la calibración del modelo, como puede verse en la Tabla 25. En las Tablas 25 y 26 se recoge además la relación entre la cantidad o concentración de metalaxil predicha por el modelo sin calibrar, calibrado, y la determinada experimentalmente $[(Q_{\text{mod}}/Q_{\text{exp}}, Q_{\text{modcal}}/Q_{\text{exp}}), (C_{\text{mod}}/C_{\text{exp}}, C_{\text{modcal}}/C_{\text{exp}})]$ con objeto de conocer el grado de sobreestimación (relación > 1) o subestimación (relación < 1) de los datos simulados. El modelo subestimó las cantidades totales lixiviadas del metalaxil en las columnas estudiadas, tanto enmendadas como no enmendadas, incubadas y no incubadas.

Las altas cantidades de metalaxil observadas en los lixiviados en comparación con las simuladas, podrían ser debidas a la presencia de macroporos en las columnas de suelo sin alterar que habrían originado flujos preferenciales, los cuales no son considerados por el modelo PRZM-3 (Ma y col., 2000; Mamy y col., 2008), que explicarían que el fungicida se hubiese adsorbido sólo parcialmente en la matriz del suelo. El menor volumen de agua necesario para que comience a detectarse experimentalmente el metalaxil en los lixiviados en comparación con la predicción del modelo, apoya la posible existencia de flujos preferenciales en las columnas no incubadas (Figura 40) e incubadas (datos no presentados en esta Memoria por ser similares a los de los suelos no incubados). Finalmente, la sobreestimación de las cantidades totales de fungicida retenidas a lo largo del perfil de suelo por parte del modelo apoya la explicación anterior. Autores como Flury y col., (1995) pusieron de manifiesto la habitual existencia de flujos preferenciales en muestras de campo.

Respecto a la distribución del metalaxil con la profundidad de la columna (Figuras 41 y 42), el comportamiento experimental se ajusta parcialmente al simulado, puesto que en ambos casos las cantidades de fungicida retenido aumentan con la profundidad de la columna, a excepción del suelo de Viana que presentó mayor retención del fungicida en el tramo más superficial (0-8 cm), especialmente en el suelo enmendado con C-Ag. Aunque el modelo predice el mismo comportamiento que la experimentación, el fungicida se concentra en general en los tres tramos más profundos (16-40 cm), especialmente en los suelos no incubados. Además, los resultados experimentales y los simulados coinciden en la existencia de una mayor cantidad de metalaxil lixiviado y retenido en las columnas no incubadas que en las incubadas (Tablas 25 y 26).

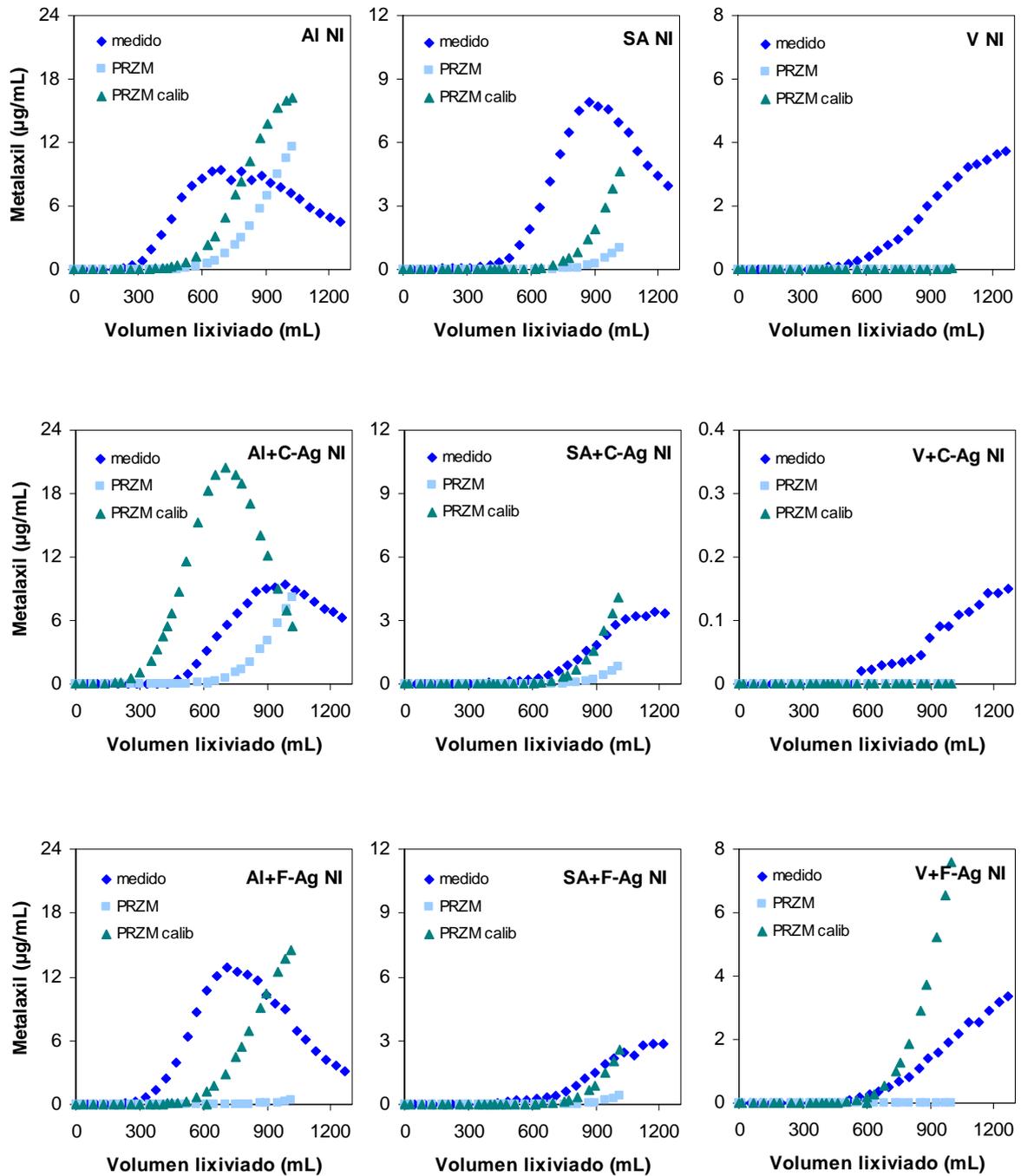


Figura 40. Curvas de lixiviación de metalaxil obtenidas experimentalmente, predichas por el modelo PRZM sin calibrar y calibrado en las columnas de suelo no incubadas (NI)

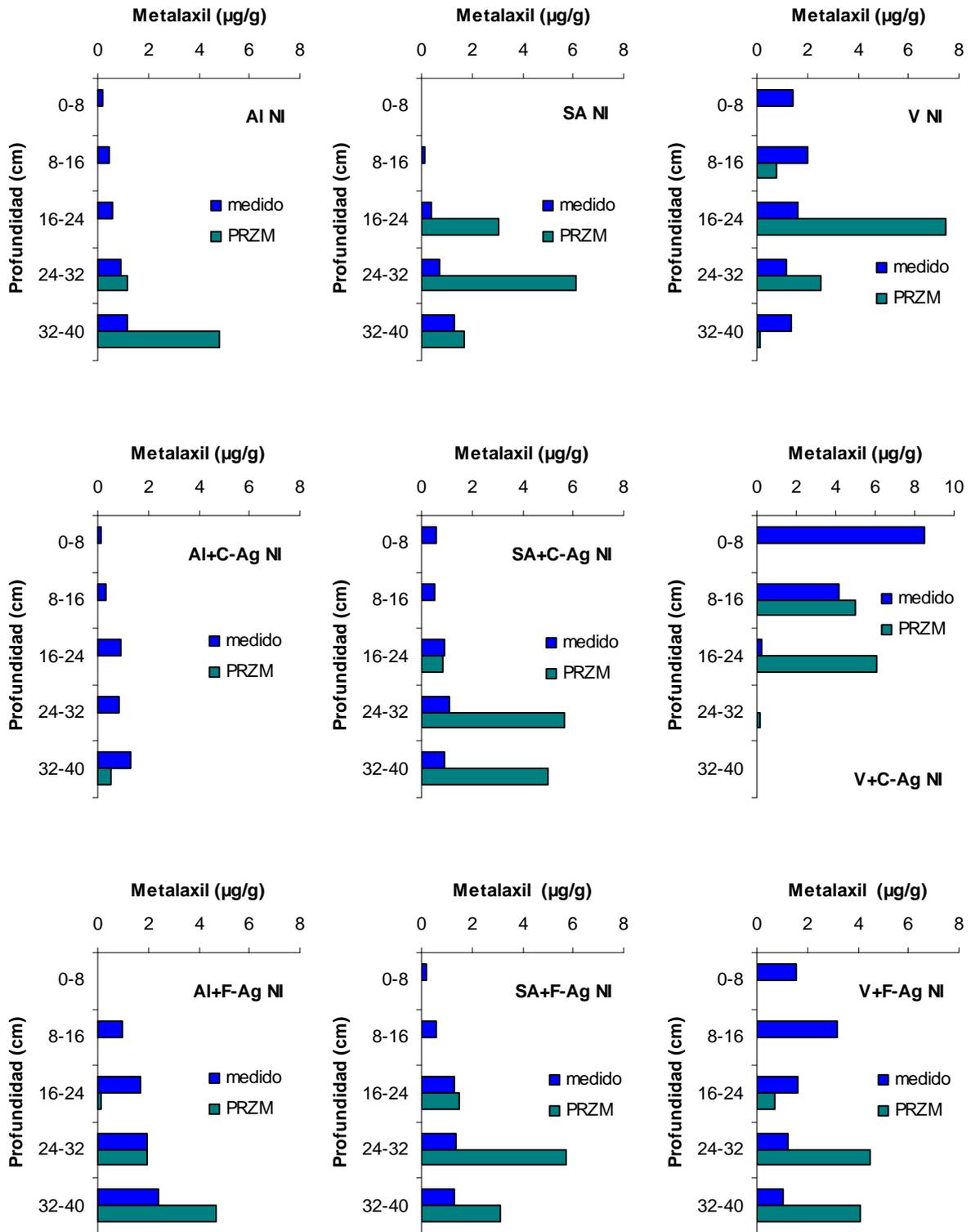


Figura 41. Distribución vertical de metalaxil, experimental y predicha por el modelo PRZM calibrado, en las columnas de suelo no incubadas (NI)

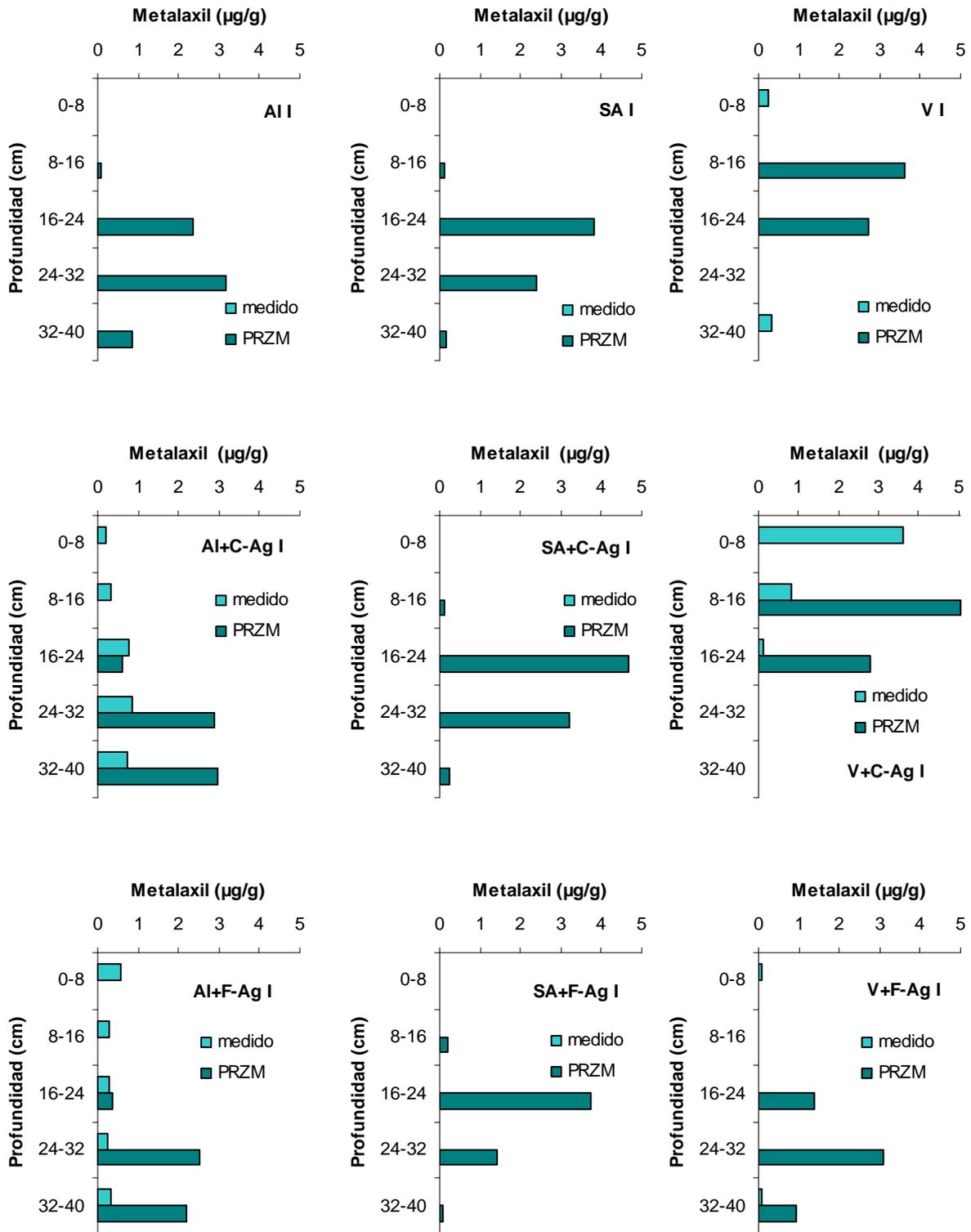


Figura 42. Distribución vertical de metalaxil, experimental y predicha por el modelo PRZM calibrado, en las columnas de suelo incubadas (I)

La modelización del comportamiento del metabolito 1 del metalaxil, tras el proceso de calibración, presentó resultados análogos a la del metalaxil en lo referente a la sobreestimación de las concentraciones totales de fungicida retenidas a lo largo del perfil de suelo (Tabla 28), así como a su distribución (datos no presentados en esta Memoria). En cambio, la cantidad total de metabolito 1 lixiviada es sobreestimada por el modelo PRZM-3 (Tabla 27), al contrario que ocurría para el metalaxil (Tabla 25). De acuerdo con Malone y col. (1999), esta sobreestimación podría ser el resultado de considerar reversible el proceso de adsorción del metabolito, por parte del modelo, en lugar de tener en cuenta las posibles desigualdades de la adsorción:desorción del compuesto (histéresis), ya que el modelo PRZM-3 no simula este fenómeno y, por tanto, sobrevaloraría su movilidad. Para el metabolito, los resultados experimentales y los simulados coinciden en la existencia de una mayor cantidad de este compuesto lixiviado y retenido en las columnas incubadas que en las no incubadas (Tablas 27 y 28).

Modelización de los resultados de movilidad de penconazol

Para el fungicida más hidrofóbico, penconazol, los resultados experimentales obtenidos en el estudio de movilidad, tanto en las columnas no incubadas como incubadas, mostrados en el Apartado 3.4.2, presentaron una buena correspondencia con aquellos obtenidos mediante la aplicación del modelo PRZM-3, ya que en ambos casos no se detectaron concentraciones del fungicida, al menos significativas, en los lixiviados de las columnas como consecuencia posiblemente de su fuerte adsorción por los suelos estudiados.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la modelización de la distribución vertical del fungicida en el perfil de suelo se ajustaron en todas las columnas estudiadas, como muestran los coeficientes de correlación simple ($r > 0.88$) y el resto de índices estadísticos (Tabla 29), a los resultados obtenidos experimentalmente, sin necesidad de tener que calibrar el modelo en ninguno de sus parámetros. Los valores de estos índices estadísticos son del mismo orden que los obtenidos por otros autores en la modelización del proceso de lixiviación de otros pesticidas mediante el modelo PRZM-3 (Mamy y col., 2008).

La distribución vertical del penconazol en el perfil del suelo fue análoga en todos los casos. En general, la cantidad de penconazol retenido disminuyó con la profundidad, encontrándose prácticamente la totalidad del fungicida añadido en la capa superior del suelo (0-8 cm) (Figuras 43 y 44). Además, las cantidades totales de fungicida retenidas experimentalmente por gramo de suelo y las predichas por el modelo fueron muy similares, tanto en las columnas incubadas como en las no incubadas, como se muestra en la Tabla 29, estando en algunos casos ligeramente sobreestimadas y en otros ligeramente subestimadas por el modelo, como evidencia un valor de CRM negativo y positivo, respectivamente.

Tabla 29. Concentraciones de penconazol retenidas en el suelo, determinadas experimentalmente (C_{exp}) y predichas por el modelo (C_{mod}), e índices de bondad de ajuste de las predicciones del modelo PRZM de distribución vertical en el perfil de suelo

Suelo	C_{exp} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C_{mod} ($\mu\text{g g}^{-1}$)	r	EF	RMSE	CRM
Columnas de suelo no incubadas						
Al	12.26	13.06	0.913	0.118	110.3	-0.065
Al+C-Ag	12.01	12.66	0.999	0.990	17.28	-0.054
Al+F-Ag	13.76	12.65	0.935	0.710	73.83	0.081
SA	11.59	12.63	0.999	0.980	27.36	-0.090
SA+C-Ag	13.68	13.08	0.999	0.999	8.92	0.044
SA+F-Ag	13.14	12.64	0.999	0.995	13.35	0.038
V	10.41	12.65	0.996	0.810	75.25	-0.215
V+C-Ag	11.66	12.66	0.999	0.960	35.03	-0.086
V+F-Ag	13.81	12.65	0.898	0.590	86.45	0.084
Columnas de suelo incubadas						
Al	10.59	12.99	0.996	0.958	39.02	-0.226
Al+C-Ag	16.39	12.65	0.999	0.950	42.27	0.228
Al+F-Ag	9.22	12.61	0.999	0.712	98.23	-0.369
SA	12.12	12.58	0.965	0.654	81.93	-0.038
SA+C-Ag	15.92	13.08	0.999	0.971	32.73	0.179
SA+F-Ag	10.16	12.59	0.998	0.834	73.26	-0.239
V	9.89	12.62	0.999	0.790	81.92	-0.277
V+C-Ag	16.13	12.65	0.951	0.854	53.64	0.216
V+F-Ag	11.68	12.62	0.883	0.010	122.3	-0.081

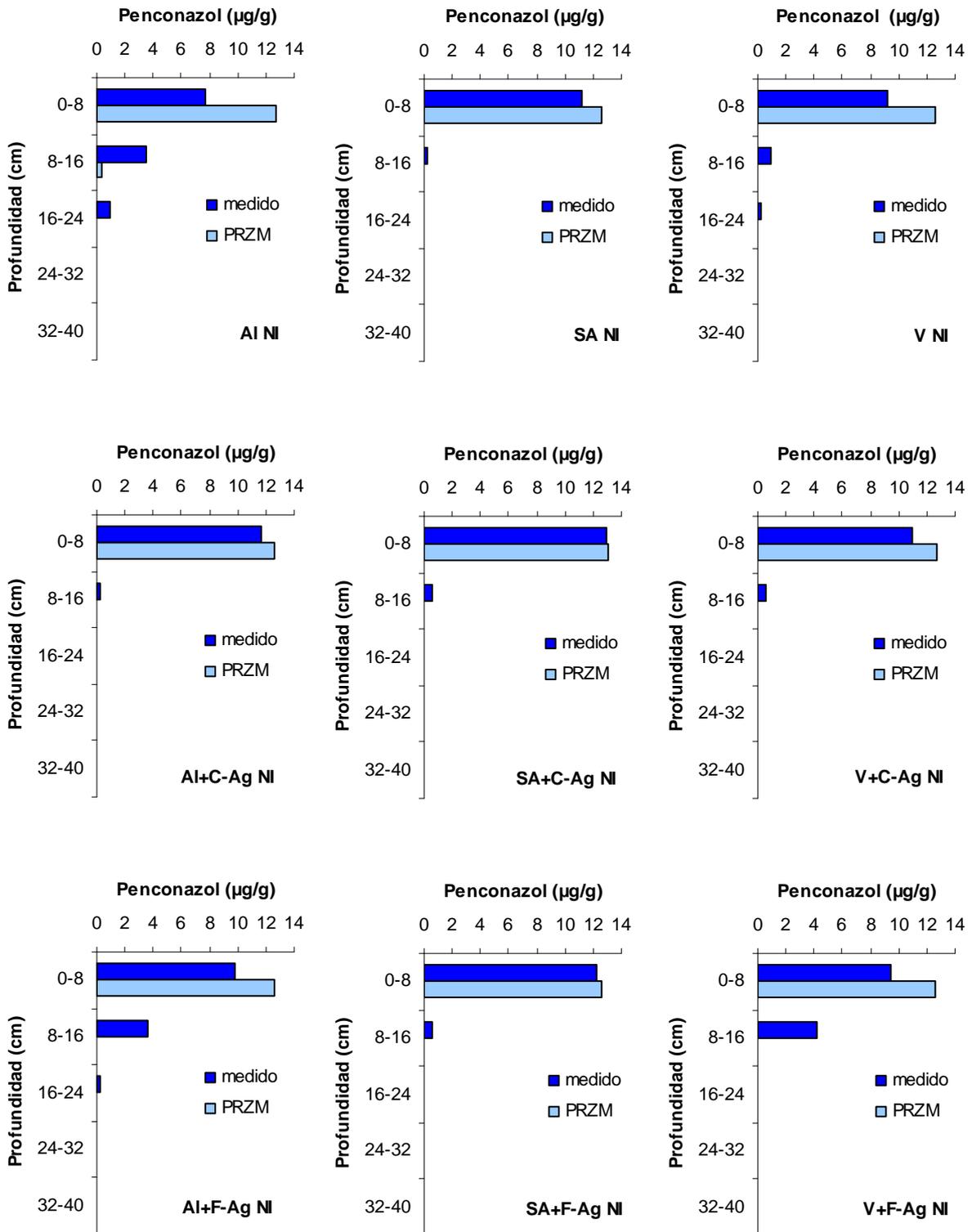


Figura 43. Distribución vertical de penconazol, experimental y predicha por el modelo PRZM, en las columnas de suelo no incubadas (NI)

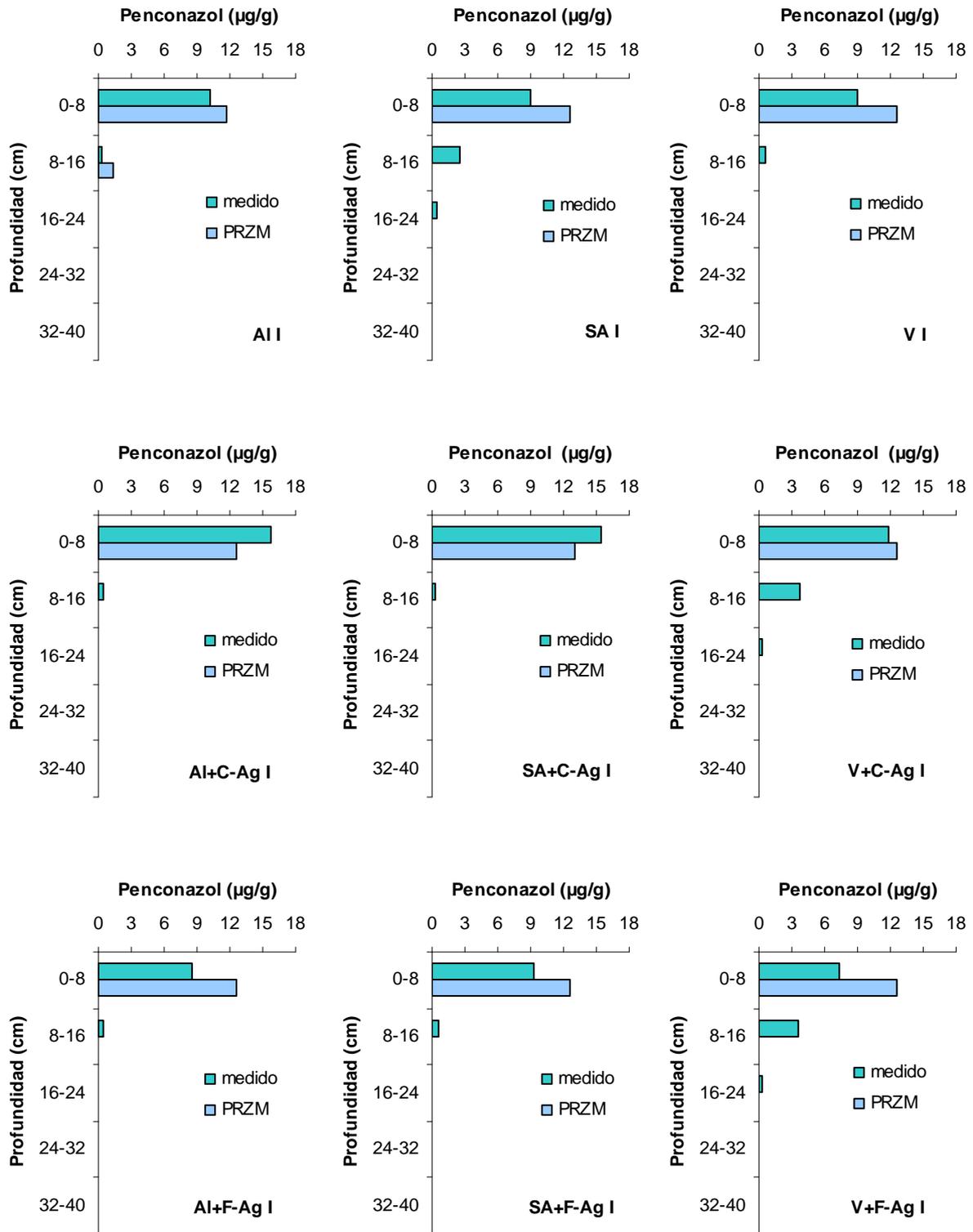


Figura 44. Distribución vertical de penconazol, experimental y predicha por el modelo PRZM, en las columnas de suelo incubadas (I)



CONCLUSIONES

4. CONCLUSIONES

1. Los estudios de adsorción de los fungicidas seleccionados por los residuos postcultivo de hongos (SMS) procedentes del cultivo de *Agaricus*, *Pleurotus* y Shiitake y con diferente tratamiento posterior a su uso (compostado o fresco), mostraron diferencias evidentes. Para todos los fungicidas se observó la mayor adsorción por el residuo compostado del cultivo de *Agaricus* y, para los compuestos con una estructura similar, la mayor adsorción se observó para aquellos con valor de K_{ow} más elevado. Las características de los materiales orgánicos que constituyen los SMS como el índice de polaridad o el indicador del grado de humificación junto con el valor de K_{ow} de los fungicidas llegaron a explicar casi el 80% de la variabilidad del coeficiente de adsorción K_{CO} . Todos los SMS mostraron una eficiencia significativa para la adsorción de ciprodinil, penconazol y tebuconazol aun después de cuatro ciclos de desorción.

2. Los cambios en las frecuencias de vibración de los principales grupos funcionales de los fungicidas y de los SMS implicados en la interacción fungicida-SMS responsables del proceso de adsorción indicaron, como principales mecanismos de interacción, la formación de enlaces de hidrógeno para metalaxil, benalaxil, ciprodinil y pirimetanil y fuerzas de van der Waals para azoxistrobin e iprovalicarb. La formación de enlaces vía transferencia de carga que podría tener lugar en la adsorción de penconazol y tebuconazol no se observó, y otros mecanismos como fuerzas de van der Waals, formación de enlaces de hidrógeno o enlace hidrofóbico fueron propuestos para la interacción de estos fungicidas con los SMS. Los resultados por FTIR no permitieron establecer diferencias para los distintos SMS.

3. El estudio de la adsorción de los fungicidas seleccionados por una serie de suelos de viñedo de La Rioja puso de manifiesto para todos los fungicidas la influencia del contenido en CO de los suelos en la adsorción de los fungicidas por los suelos sin enmendar y el aumento de la adsorción por los suelos enmendados con los SMS. Además, en todos los suelos enmendados se observó un descenso de la variabilidad de los coeficientes de adsorción (K_d) de los fungicidas, debido a la influencia del residuo orgánico en este proceso independiente de otras propiedades fisicoquímicas de los suelos.

4. Los coeficientes de distribución K_d de los fungicidas metalaxil, penconazol, pirimetanil e iprovalicarb por el suelo enmendado con el residuo compostado fueron siempre más elevados que por el suelo enmendado con el residuo sin compostar. El menor contenido en COD y el mayor grado de humificación del CO del suelo enmendado con el residuo compostado favoreció la adsorción de todos los fungicidas por este suelo respecto al suelo enmendado con el residuo sin compostar. El estudio de la influencia del tiempo de tratamiento del suelo con los residuos no indicó diferencias significativas de adsorción para el suelo sin enmendar, mientras que la adsorción de los fungicidas por los suelos disminuyó después de 6 y 12 meses de tratamiento de los suelos con los residuos. Esta disminución fue paralela a la disminución del contenido en CO en los suelos

enmendados, y fue mayor para los suelos enmendados con la dosis alta del residuo sin compostar a pesar de que el grado de humificación del CO residual de este suelo aumentó, lo que pone de manifiesto que la disminución del contenido en CO de los suelos enmendados llegó a ser más relevante para la adsorción de los fungicidas que los cambios en su naturaleza o estructura.

5. La influencia de la composición y dosis de los residuos orgánicos influyó también en la desorción de los fungicidas desde los suelos enmendados. Los coeficientes de histéresis (H) de las isothermas de desorción indicaron mayor irreversibilidad para la desorción de los fungicidas penconazol y pirimetanil desde los suelos enmendados con la dosis más elevada del residuo compostado que desde los suelos sin enmendar, mientras que la presencia de los residuos favoreció la desorción de los fungicidas metalaxil e iprovalicarb desde los suelos enmendados en mayor o menor medida. El efecto del tiempo de incubación en la desorción de pirimetanil fue variable, mientras que la desorción de penconazol siempre aumentó y la de metalaxil e iprovalicarb disminuyó desde los suelos enmendados al aumentar el tiempo de incubación.

6. El modelo cinético de primer orden permitió generalmente ajustar los datos de disipación de los fungicidas en los suelos aunque algunas cinéticas de disipación en el suelo enmendado con los residuos se ajustaron mejor a una cinética de primer orden multicompartimental. La disipación de los fungicidas iprovalicarb, pirimetanil y metalaxil fue prácticamente total durante el período de incubación de los fungicidas con los suelos, aunque fue generalmente más lenta en los suelos enmendados, especialmente con el residuo compostado. Para el fungicida más persistente, penconazol, se encontró un porcentaje >80% después de un período de incubación de 258 días en el suelo enmendado con el residuo compostado. En el suelo esterilizado la persistencia de los fungicidas durante el tiempo de incubación fue próxima al 100%, excepto para el metalaxil, indicando que la disipación se debe generalmente a procesos de biodegradación y la degradación química debe ser menos importante o más lenta.

7. El estudio del mecanismo de disipación de ^{14}C -metalaxil y ^{14}C -penconazol indicó también la influencia de los distintos residuos en la mineralización de los fungicidas y en la formación de residuos enlazados al suelo. El porcentaje de mineralización fue bajo, aunque fue mayor para metalaxil que para penconazol, y fue mayor en el suelo sin enmendar para ambos compuestos. Este comportamiento derivado del aumento de la adsorción de los fungicidas por los suelos enmendados dio lugar, en general, y durante todo el proceso de incubación, a una menor biodisponibilidad para la degradación microbiana y consecuentemente a una disipación más lenta. Sin embargo, en los suelos sin enmendar la formación de residuos enlazados al suelo aumentó debido posiblemente a la formación de productos de degradación del fungicida más biodisponible con mayor capacidad para ser adsorbidos que el compuesto original.

8. La adición de los residuos orgánicos al suelo estimuló la actividad deshidrogenasa de los microorganismos debido posiblemente al aumento del CO disponible y al aumento de la población

microbiana del suelo. Los valores de la actividad deshidrogenasa fueron más elevados al inicio del período de incubación en el suelo sin enmendar y en el suelo enmendado con el residuo compostado, mientras que en el suelo enmendado con el residuo sin compostar los microorganismos necesitaron un período de adaptación (30 días) para activarse y utilizar la enmienda como fuente de carbono y/o nitrógeno. Por otra parte, la adición de los fungicidas al suelo estimuló, en general, la actividad deshidrogenasa del suelo al suministrar éstos otra posible fuente de carbono y/o nitrógeno para los microorganismos.

9. La movilidad del fungicida metalaxil en columnas de suelo sin enmendar y enmendado con los residuos fue mayor que la de penconazol debido a su menor adsorción por el suelo. Esta menor retención debe facilitar la degradación del fungicida de acuerdo con los productos de degradación observados en los lixiviados y en los extractos de suelo, y debe explicar los bajos porcentajes de compuesto total encontrado en las columnas de suelo después del período de incubación. Por otra parte, la adición de los residuos al suelo da lugar, en general, a una disminución de la concentración del pico máximo en la curva de lixiviación y a una disminución del porcentaje de compuesto total lixiviado debido al aumento de su adsorción.

10. El penconazol se mostró totalmente inmóvil en los suelos sin enmendar y enmendados siendo en mayor parte retenido en el primer tramo de la columna durante el proceso de lixiviación. El proceso de adsorción contribuyó además a prevenir la degradación del fungicida al no observarse en los lixiviados ni en los extractos del suelo ningún producto de degradación, tanto en las columnas de suelo no incubadas como en las sometidas a un proceso de incubación.

11. El modelo PRZM-3 parametrizado con datos previamente determinados en el laboratorio proporcionó predicciones satisfactorias del comportamiento de movilidad de penconazol sin necesidad de calibrar el modelo. En cambio, para el caso del metalaxil y su metabolito mayoritario, no se obtuvo una bondad de ajuste suficiente entre los resultados experimentales y modelizados, tal vez porque existen procesos importantes (existencia de flujos preferenciales, fenómeno de histéresis de la adsorción, etc.) que no son considerados o representados correctamente por el modelo o quizás porque los parámetros determinados en el laboratorio no fueron totalmente adecuados para representar las condiciones de campo.

12. En resumen, se puede concluir que la adición de los sustratos postcultivo de hongos (SMS) al suelo tiene un impacto en la adsorción, disipación y/o movilidad de los fungicidas aplicados en suelos de viñedo que depende de las características de los residuos y del fungicida principalmente. Los resultados obtenidos en el trabajo ponen de manifiesto el interés de estudiar el efecto de los residuos orgánicos, previamente a su utilización en el campo, en el comportamiento de los fungicidas en el suelo con el fin de establecer condiciones que permitan optimizar su uso como enmienda sin ocasionar riesgos medioambientales, cuando se utilicen conjuntamente residuos y fungicidas en agricultura.



BIBLIOGRAFÍA

5. BIBLIOGRAFÍA

A

- Abbate, C., Borzi, D., Baglieri, A. y Gennari, M. (2009).** Degradation of the fungicide pyrimethanil in water and soil. *Agrochimica*, 53, 398-404.
- Aksu, Z. (2005).** Review. Application of biosorption for the removal of organic pollutants. *Process Biochem.*, 40, 997-1026.
- Alexander, M. (1994).** *Biodegradation and bioremediation*. Academic Press Inc: San Diego, CA.
- Alexander, M. (2000).** Aging, bioavailability and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 34, 4259-4265.
- Andrades, M.S., Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M. (2004).** Effect of the addition of wine distillery wastes to vineyard soils on the adsorption and mobility of fungicides. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3022-3029.
- Andrades, M.S., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M. (2001).** Significance of soil properties in the adsorption and mobility of the fungicide metalaxyl in vineyard soils. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2363-2369.
- Arias, M., Torrente, A. C., López, E., Soto, B. y Simal-Gándara, J. (2005).** Adsorption–Desorption Dynamics of Cyprodinil and Fludioxonil in Vineyard Soils. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5675-5681.
- Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., Mejuto, J.C. y García-Río, L. (2008).** Review. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources *Agric., Ecosyst. Environ.*, 123, 247–260.
- Arrouays, D., Jamagne, M. y Gaillard, H., (1993).** Sur la possibilité d'estimer les propriétés de rétention en eau de sols limoneux lessivés hydromorphes du sud-ouest de la France à partir de leurs caractéristiques de constitution. *CR Acad. Agric. Fr.*, 79, 111–121.
- Asociación Española de Cultivadores de Champiñón (2007).** Producción de compost de alta calidad para la agricultura con el sustrato agotado del cultivo de champiñón. *Boletín de la Asociación Española de Cultivadores de Champiñón*, 50, 26-31.

B

- Baglieri, A., Abbate, C., Borzi, D. y Gennari, M. (2009).** Adsorption of pyrimethanil on soil and some of its colloids. *Fresenius Environ. Bull.*, 18, 578-584.
- Bansal, O.P. (2004).** Effect of sewage sludge on carbamate pesticides adsorption in soils of Aligarh district. *J. Indian Chem. Soc.*, 81, 41-46.
- Barriuso, E., Andrades, M.S., Benoit, P. y Houot, S. (2010).** Pesticide desorption from soils facilitated by dissolved organic matter coming from composts: experimental data and modelling approach. *Biogeochemistry*, DOI:10.1007/s10533-010-9481-y.

- Barriuso, E., Baer, U. y Calvet, R. (1992b).** Dissolved organic matter and adsorption-desorption of dimefuron, atrazine, and carbetamide by soils. *J. Environ. Qual.*, 21, 359-367.
- Barriuso, E., Benoit, P. y Dubus, I.G. (2008).** Formation of pesticide nonextractable (bound) residues in soil: Magnitude, controlling factors and reversibility. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 1845-1854.
- Barriuso, E., Feller, Ch., Calvet, R. y Cerri, C. (1992a).** Sorption of atrazine, terbutryn and 2,4-D herbicides in two Brazilian oxisols. *Geoderma*, 53, 155-167.
- Barriuso, E., Houot, S. y Serr-Wittling, C. (1997).** Influence of compost addition to soil on the behaviour of herbicides. *Pestic. Sci.*, 49, 65-75.
- Barriuso, E., Laird, D.A., Koskinen, W.C. y Dowdy, R.H. (1994).** Atrazine desorption from smectites. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58, 1632-1638.
- Battaglin, W.A., Sandstrom, M.W., Kuivila, K.M., Kolpin, D.W. y Meyer, M.T. (2010).** Occurrence of Azoxystrobin, Propiconazole, and Selected Other Fungicides in US Streams, 2005–2006. *Water Air Soil Pollut.*, DOI: 10.1007/s11270-010-0643-2.
- Beck, A.J., Johnston, A.E.J. y Jones, K.C. (1993).** Movement of nonionic organic chemicals in agricultural soils. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 23, 219-248.
- Bellamy, L.J. (1975).** *The infrared spectra of complex molecules*. Chapman and Hall, London, UK.
- Belmonte, A., Garrido, A. y Martínez, J.L. (2005).** Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 538, 117–127.
- Bending, G.D. y Rodríguez-Cruz, M.S. (2007).** Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon. *Chemosphere*, 66, 664-671.
- Bending, G.D., Rodríguez-Cruz, M.S. y Lincoln, D.S. (2007).** Fungicide impacts on microbial communities in soils with contrasting management histories. *Chemosphere*, 69, 82–88.
- Berenzen, N., Lentzen-Godding, A., Probst, M., Schulz, H., Schulz, R., y Liess, M. (2005).** A comparison of predicted and measured levels of runoff-related pesticide concentrations in small lowland streams on a landscape level. *Chemosphere*, 58, 683–691.
- Bermúdez-Couso, A., Arias-Estévez, M., Nóvoa-Muñoz, J.C., López-Periago, E., Soto-González, B. y Simal-Gándara, J. (2007).** Seasonal distributions of fungicides in soils and sediments of a small river basin partially devoted to vineyards. *Water Res.*, 41, 4515–4525.
- Beulke, S. y Brown, C.D. (2001).** Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modelling. *Bio. Fertil. Soils*, 33, 558-564.
- Beulke, S., van Beinum, W., Brown, C.D., Mitchell, M. y Walker, A. (2005).** Evaluation of simplifying assumptions on pesticide degradation in soil. *J. Environ. Qual.*, 34, 1933-1943.
- Bintein, S. y Deviller, J. (1994).** QSAR for organic chemical sorption in soils and sediments, *Chemosphere*, 28, 1171-1188.

Blanchoud, H., Farrugia, F. y Mouchel, J.M. (2004). Pesticide uses and transfer in urbanised catchments. *Chemosphere*, 55, 905-913.

Boesten, J.J.T.I. y van der Linden, A.M.A. (1991). Modelling the influence of sorption and transformation on pesticide leaching and persistence. *J. Environ. Qual.*, 20, 425-435.

Bollag, J.M. y Liu, S.Y. (1990). Biological transformation processes of pesticides. H.H. Cheng, (Ed.), En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, pp. 169-211.

Bratanova, Z. y Vassilev, K. (2001). Pesticide residues in ground and surface water in Bulgaria. *Fresenius Environ. Bull.* 10, 401-414.

Briceño, G., Demanet, R., Mora, M.D. y Palma, G. (2008). Effect of liquid cow manure on andisol properties and atrazine adsorption. *J. Environ. Qual.*, 37, 1519-1526.

Briceño, G., Palma, G. y Durán, N. (2007). Influence of organic amendment on the biodegradation and movement of pesticides. *Crit. Rev. Env. Sci. Tech.*, 37, 233-271.

Brunetti, G., Soler-Rovira, P., Matarrese, F. y Senesi, N. (2009). Composition and Structural Characteristics of Humified Fractions during the Co-composting Process of Spent Mushroom Substrate and Wheat Straw. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 10859-10865.

C

Cabrera, A., Cox, L., Koskinen, W.C. y Sadowsky, M.J. (2008). Availability of triazine herbicides in aged soils amended with olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 4112-4119.

Cabrera, A., Cox, L., Velarde, P., Koskinen, W.C. y Cornejo, J. (2007). Fate of diuron and terbuthylazine in soils amended with two-phase olive oil mill waste. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 4828-4834.

Calvet, R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Persp.*, 88, 145-177.

Calvet, R., Terce, M. y Arviu, J.C. (1980). Adsorption des pesticides par les sols et leur constituents. *Ann. Agron.*, 31, 33-385.

Cameron, K. C., Di, H. J. y McLaren, R. G. (1997). Is soil an appropriate dumping ground for our wastes? *Aust. J. Soil Res.*, 35, 995-1035.

Capri, E., Camisa, M.G., Flores-Céspedes, F., Glass, C.R., González-Pradas, E. y Trevisan, M. (2001). Imidacloprid and pyrimethanil soil sorption. *Agronomie*, 21, 57-64.

Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Fernández-Laespada, M.E., Calvo-Seronero, L. y Sánchez-San Román, F.J. (2003). Evolution over time of the agricultural pollution of waters in an area of Salamanca and Zamora (Spain). *Water Res.*, 37, 928-938.

Carbo, L., Souza, V. y Dores, E.F.G.C. (2008). Determination of pesticides multiresidues in shallow groundwater in a cotton-growing region of Mato Grosso, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, 19, 1111-1117.

Carsel, R.F., Imhoff, J.C., Hummel, P.R., Cheplick, J.M. y Donigian, A.S., Jr. (1998). *PRZM-3: a Model for Predicting Pesticide and Nitrogen Fate in the Crop Root and Unsaturated Soil Zones: User's Manual*

for Release 3.12. National Exposure Research Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, Athens, GA.

Carter, A.D. (2000). Herbicide movement in soils: principles, pathways and processes. *Weed Res.*, 40, 112-113.

Cerejeira, M.J., Viana, P., Batista, S., Pereira, T., Silva, E., Ferreira, M. y Silva-Fernandes, A.M. (2003). Pesticides in Portuguese surface and ground waters. *Water Res.*, 37, 1055-1063.

Chang, N.B., Srilakshmi, K.R. y Parvathinathan, G. (2008). Comparison of models of simazine transport and fate in the subsurface environment in a citrus farm. *J. Environ. Manag.*, 86, 27-43.

Chefetz, B., van Heemst, J.D.H., Chen, Y., Romaine, C.P., Chorover, J., Rosario, R., Gui, M.X. y Hatcher, P.G. (2000). Organic matter transformation during the weathering process of spent mushroom substrate. *J. Environ. Qual.*, 29, 592-602.

Chen, G.Q., Zeng, G.M., Tu, X., Huang, G.H. y Chen, Y.N. (2005). A novel biosorbent: characterization of the spent mushroom compost and its application for removal of heavy metals. *J. Environ. Sci.-China*, 17, 756-760.

Chen, S-K., Edwards, C.A. y Subler, S. (2001). Effects of the fungicide benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biol. Biochem.*, 33, 1971-1980.

Cheng, H.H. (1990). *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Soil Sci. Soc. Am. Book Ser. 2, Am. Sac. Agron., Madison, Wisconsin.

Chesters, G., Simsiman, G.V., Lavy, J., Albajjar, B.J., Fatulla, R.N. y Harkin, J.M. (1989). Environmental fate of alachlor and metolachlor. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 110, 1-73.

Chiou, C.T., Kile, D.E. Rutherford, D.W., Sheng, G. y Boyd, S.A. (2000). Sorption of selected organic compounds from water to a peat soil and its humic acid and humin fractions: Potential sources of the sorption nonlinearity. *Environ. Sci. Technol.*, 1254-1258.

Chiu, S.W., Law, S.Ch., Ching, M.L., Cheung, K.W. y Chen, M.J. (2000). Themes for mushroom exploitation in the 21st century: Sustainability, waste management, and conservation. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 46, 269-282.

Clark, A.N., Plumb, P.D., Subramanyan, T.K. y Wilson, D.J. (1974). Soil clean-up by surfactant washing. 1. Laboratory results and mathematical modeling. *Sep. Sci. Technol.*, 26, 301-343.

Close, M.E. y Rosen, M.R. (2001). National survey of pesticides in groundwater using GCMS and ELISA. *New Zeal. J. Mar. Fresh. Res.*, 35, 205-219.

Cohen, S.Z., Wauchope, R.D., Klein, A.W., Eadsforth, C.V. y Graney, R. (1995). Offsite transport of pesticides in water: mathematical models of pesticides leaching and runoff. *Pure Appl. Chem.*, 67, 2109-2148.

Cornelissen, G., Gustafsson, O., Bucheli, T., Jonker, M., Koelmans, A. y van Noort, P. (2005). Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 6881-6895.

Cox, L., Fernandes, M.C., Zsolnay, A., Hermosín, M.C. y Cornejo, J. (2004). Changes in dissolved organic carbon of soil amendments with aging: effect on pesticide adsorption behaviour. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 5635-5642.

Cox, L., Velarde, P., Cabrera, A., Hermosín, M.C. y Cornejo, J. (2007). Dissolved organic carbon interactions with sorption and leaching of diuron in organic-amended soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 58, 714-721.

Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M., Ricciuti, P., y Ruggiero, P. (2001). Molecular approaches to investigate herbicide-induced bacterial community changes in soil microcosms. *Biol. Fertil. Soils*, 33, 460-466.

D

Delgado-Moreno, L., Almendros, G. y Peña, A. (2007b). Raw or incubated olive-mill wastes and its biotransformed products as agricultural soil amendments effect on sorption-desorption of triazine herbicides. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 836-843.

Delgado-Moreno, L. y Peña, A. (2007). Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 6213-6218.

Delgado-Moreno, L. y Peña, A. (2009). Compost and vermicompost of olive cake to bioremediate triazines-contaminated soil. *Sci. Total Environ.*, 407, 1489-1495.

Delgado-Moreno, L., Sánchez-Moreno, L. y Peña, A. (2007a). Assessment of olive cake as soil amendment for the controlled release of triazine herbicides. *Sci. Total Environ.*, 378, 119-123.

Delgado-Moreno, L., Wu, L. y Gan, J. (2010). Effect of dissolved organic carbon on sorption of pyrethroids to sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 8473-8478.

de Wilde, T., Mertens, J., Spanoghe, P., Ryckeboer, J., Jaeken, P. y Springael, D. (2008). Sorption kinetics and its effects on retention and leaching. *Chemosphere*, 72, 509-516.

de Wilde, T., Spanoghe, P., Ryckeboer, J., Jaeken, P. y Pringael, D. (2009). Sorption characteristics of pesticides on matrix substrates used in biopurification systems. *Chemosphere*, 75, 100-108.

Dolaptsoglou, C., Karpouzias, D.G., Menkissoglu-Spiroudi, U., Eleftherohorinos, I. y Voudrias, E.A. (2007). Influence of different organic amendments on the degradation, metabolism, and adsorption of terbuthylazin. *J. Environ. Qual.*, 36, 1793-1802.

Doménech, X. (2000). Química del suelo: el impacto de los contaminantes. Miraguano, Madrid.

Dores, E.F.G.C., Navickiene, S. y Cunha, M.L.F. (2006). Multiresidue determination of herbicides in environmental waters from Primavera do Leste Region (Middle West of Brazil) by SPE-GC-NPD. *J. Braz. Chem. Soc.*, 17, 866-873.

Dousset, S., Thévenot, M., Schrack, D., Gouy, V. y Carluet, N. (2010). Effect of grass cover on water and pesticide transport through undisturbed soil columns, comparison with field study (Morcille watershed, Beaujolais). *Environ. Pollut.*, 158, 2446-2453.

Dubus, I.G., Barriuso, E. y Calvet, R. (2001). Sorption of weak organic acids in soils: clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere*, 45, 767-774.

E

ECHCD (European Commission Health & Consumers Directorate) – General (2002). *Review report for the active substance iprovalicarb.* SANCO/2034/2000 – Final.

ECHCD (European Commission Health & Consumers Directorate) – General (2010). *Review report for the active substance metalaxyl.* SANCO/10476/2010 – rev.1.

EFSA (European Food Safety Authority) Scientific Report (2006). *Conclusion on the peer review of pyrimethanil,* 61, 1-70.

EFSA (European Food Safety Authority) Scientific Report (2008). Conclusion on the peer review of penconazole, 175, 1-104.

Eggen, T. (1999). Application of fungal substrate from commercial mushroom production – *Pleurotus ostreatus* – for bioremediation of creosote contaminated soil. *Int. Biodeter. Biodegr.*, 44, 117-126.

Elliott, J.A., Cesna, A.J., Best, K.B., Nicholaichuk, W. y Tollefson, L.C. (2000). Leaching rates and preferential flow of selected herbicides through tilled and untilled soil. *J. Environ. Qual.*, 29, 1650–1656.

Elliott, M., Janes, N.F. y Potter, C. (1978). The future of pyrethroids in insect control. *Annu. Rev. Entomol.*, 23, 443-469.

Essington, M.E. (2004). *Soil and water chemistry. An integrative approach.* CRC Press, Florida.

F

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (1994). Tebuconazol. En: Pesticides residues in food -1994. Report of the joint meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues in food and the environment and the WHO expert group on pesticide residues. *FAO Plant Production and Protection Paper*, 127, 165-180.

FAOSTAT (2009). Página web de *Food and Agriculture Organization of the United Nations.* <http://faostat.fao.org>. Fecha consulta: agosto 2011.

Fenoll, J., Ruiz, E., Flores, P., Vela, N., Hellín, P. y Navarro, S. (2011). Use of farming and agro-industrial wastes as versatile barriers in reducing pesticide leaching through soil columns. *J. Hazard. Mater.*, 187, 206–212.

Fernandes, M.C., Cox, L., Hermosín, M.C. y Cornejo, J. (2003). Adsorption-desorption of metalaxyl as affecting dissipation and leaching in soils: role of mineral and organic components. *Pest. Manag. Sci.*, 59, 545-552.

Fernandes, M.C., Cox, L., Hermosín, M.C. y Cornejo, J. (2006). Organic amendments affecting sorption, leaching and dissipation of fungicides in soils. *Pest. Manag. Sci.*, 62, 1207-1215.

Fernández-Bayo, J.D., Nogales, R. y Romero, E. (2007). Improved retention of imidacloprid (Confidor®) in soils by adding vermicompost from spent grape marc. *Sci. Total Environ.*, 378, 95-100.

Fernández-Bayo, J.D., Nogales, R. y Romero, E. (2009). Assessment of three vermicomposts as organic amendments used to enhance diuron sorption in soils with low organic carbon content. *Eur. J. Soil Sci.*, 60, 935–944.

Filipe, O.M.S., Vidal, M.M., Duarte, A.C. y Santos, E.B.H. (2009). Adsorption-desorption behaviour of thiram onto humic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 4906-4912.

Filipe, O.M.S., Vidal, M.M., Scherer, H.W., Schneider, R.J., Duarte, A.C., Esteves, V.I. y Santos, E.B.H. (2010). Effect of long term organic amendments on adsorption-desorption of thiram onto a luvisol soil derived from loess. *Chemosphere*, 80, 293-300.

Flury, M. (1996). Review. Experimental evidence of transport of pesticides through field soils. *J. Environ. Qual.*, 25, 25-45.

Flury, M., Leuenberger, J., Studer, B. y Fluhler, H. (1995). Transport of anions and herbicides in a loamy and a sandy field soil. *Water Res. Research*, 31, 823-835.

FOCUS (2000). *FOCUS Groundwater Scenarios in the EU Review of Active Substances.* Report of the FOCUS Groundwater Scenarios Workgroup, EC Document Reference Sanco/321/2000 rev.2, 202 pp.

FOCUS (2006). Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration. *Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics*; EC Document Reference Sanco/10058/2005 version 2.0; 434 pp.

FOOTPRINT (2011). *Pesticide Properties Database.* University of Hertfordshire. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/index.htm>

Fushiwaki, Y. y Urano, K. (2001). Adsorption of pesticides and their biodegraded products on clay minerals and soils. *J. Health Sci.*, 47, 429-432.

G

García-Santa María, T. (2004). *Cambios y transformaciones en el sistema agrario riojano a finales del siglo XX.* Tesis doctoral. Universidad de La Rioja, España.

Gavrilescu, M. (2005). Review. Fate of Pesticides in the Environment and its Bioremediation. *Eng. Life Sci.*, 5, 497-525.

Gerecke, A.C., Schärer, M., Singer, H.P., Müller, S.R., Schwarzenbach, R.P., Sägesser, M., Ochsenbein, U. y Popow, G. (2002). Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste treatment plants – current situation and reduction potential. *Chemosphere*, 48, 307-315.

Gevao, B., Semple, K.T. y Jones, K.C. (2000). Review. Bound pesticide residues in soils. *Environm. Pollution*, 108, 3-14.

Ghosh, R.K. y Singh, N. (2009). Effect of organic manure on sorption and degradation of azoxystrobin in soil. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 632-636.

Gigliotti, G., Onofri, A., Pannacci, E., Businelli, D. y Trevisan, M. (2005). Influence of dissolved organic matter from waste material on the phytotoxicity and environmental fate of triflusaluron methyl. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 7446-7451.

Giles, C.H., McEwan, T.H., Nakhwa, S.N. y Smith, D.A. (1960). Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms and its use in diagnosis of adsorption mechanisms and in measurement of specific surface areas of solid. *J. Chem. Soc.*, 111, 3973-3993.

Gonçalves, C.M., Esteves, J.C.G., y Alpendurada, M.F. (2007). Evaluation of the Pesticide Contamination of Groundwater Sampled over Two Years from a Vulnerable Zone in Portugal. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 6227-6235.

González-Pradas, E., Flores-Céspedes, F., Ureña-Amate, M.D. y Fernández-Pérez, M. (1999). Adsorption of diuron, imidacloprid, procymidone and pyrimethanil on mediterranean soils. *Human Environ. Exp. Xenob.*, 313-319.

Grenni, P., Barra Caracciolo, A., Rodríguez-Cruz, M.S. y Sánchez-Martín, M.J. (2009). Changes in the microbial activity in a soil amended with oak and pine residues and treated with linuron herbicide. *Appl. Soil Ecol.*, 41, 2-7.

Gustafson, D.I. y Holden, L.R. (1990). Nonlinear pesticide dissipation in soil: A new model base don spatial variability. *Environ. Sci. Tech.*, 24, 1032-1038.

H

Hairston, J.E., Stribling, L. y Beck, J.M. (2001). Understanding pesticides and how they affect water quality. *Alabama Cooperative Extension System*, 5pp.

Haouari, J., Dahchour, A., Peña-Heras, A., Louchard, X., Lennartz, B., Alaoui, M.E. y Satrallah, A. (2006). Behavior of two phenyl urea herbicides in clayey soils and effect of alternating dry-wet conditions on their availability. *J. Environ. Sci. Health B*, 41, 883-893.

Hennebole, J. y Bornatsch, W. (1997). *Degradation and metabolism of SZX 0722 in soil*. Part 1. Interner Bericht der Bayer AG, Leverkusen.

Herrero-Hernández, E., Andrades, M.S., Marín-Benito, J.M., Sánchez-Martín, M.J., y Rodríguez-Cruz, M.S. (2011b). Field-scale dissipation of tebuconazole in a vineyard soil amended with spent mushroom substrate and its potential environmental impact. *Ecotox. Environ. Saf.*, 74, 1480-1488.

Herrero-Hernández, E., Andrades, M.S., Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J. (2011a). Determination of multi-class pesticides in surface and groundwater from La Rioja (Spain) by solid-phase extraction and GC-MS. En: *EurAqua-PEER Conference*, Montpellier (Francia).

Hildebrandt, A., Guillamon, M., Lacorte, S., Tauler, R., y Barceló, D. (2008). Impact of pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (North Spain). *Water Res.*, 42, 3315-3326.

Hiller, E., Fargašová, A., Zemanová, L. y Bartař, M. (2008). Influence of wheat ash on the MCPA immobilization in agricultural soils. *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 81, 285-288.

Houot, S., Barriuso, E. y Bergheaud, V. (1998). Modifications to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. *Soil Biol. Biochem.*, 30, 2147-2157.

Huang, P.M., Berthelin, J., Bollag, J.M., McGill, W.B. y Page, A.L. (1995). *Environmental Impact of soil component interactions*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, 450 pp.

Huang, W., Peng, P., Yu, Z., y Fu, J. (2003). Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. *Appl Geochem.*, 18, 955-972.

Hutson, J.L. y Wagenet, R.J. (1992). *Leaching Estimation and Chemistry Model, Version 3*. Department of Soil, Crop and Atmospheric Sciences, Research Series No. 92-3. Cornell Univ., New York.

I

Iglesias-Jiménez, E., Poveda, E., Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M. (1997). Effect of the nature of exogenous organic matter on pesticide sorption by the soil. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 33, 117-124.

J

Jackson, S.H. (2003). Use of PRZM-3 to validate a laboratory to field degradation conceptual model. *Pest. Manag. Sci.*, 60, 8–16.

Jacobson, A.R., Dousset, S., Guichard, N., Baveye, P.C. y Andreux, F. (2005). Diuron mobility through vineyard soils contaminated with copper. *J. Environ. Pollut.*, 138, 250–9.

Jarvis, N.J. (1991). *MACRO - a model of water movement and solute transport in macroporous soils*. Reports and Dissertations No. 9. Depart. Soil Sci., Swedish Univ. Agric. Sci., Uppsala.

Jarvis, N.J. (1998). Modelling the impact of preferential flow on solute transport in soils. H.M. Selim y L. Ma. (Eds.), En: *Physical Nonequilibrium in Soils: Modelling and Applications*. Ann Arbor Press, pp. 195-222.

Johnsen, H., Jacobsen, C., Torsvik, V., y Sorensen, J. (2001). Review. Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils. *Biol. Fert. Soils*, 33, 443-453.

K

Kadian, N., Gupta, A., Satya, S., Mehta, R.K. y Malik, A. (2008). Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials. *Bioresource Technol.*, 99, 4642-4647.

Kadian, N., Malik, A., Satya, S. y Dureja, P. (2010). Effect of organic amendments on microbial activity in chloropyrifos contaminated soil. *J. Environ. Manag.*, DOI:10.1016/j.jenvman.2010.10.023.

Kan, A.T., Fu, G.M., Hunter, M.A. y Thomson, M.B. (1994). Sorption/desorption hysteresis in organic pollutant and soil/sediment interaction. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 859-867.

Karanasios, E., Tsiropoulos, N.G., Karpouzas, D.G. y Ehaliotis, C. (2010b). Degradation and adsorption of pesticides in compost-based biomixtures as potential substrates for biobeds in Southern Europe. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 9147-9156.

Karanasios, E., Tsiropoulos, N.G., Karpouzas, D.G. y Menkissoglu-Spiroudi, U. (2010a). Novel biomixtures based on local Mediterranean lignocellulosic materials: Evaluation for use in biobed systems. *Chemosphere*, 80, 914–921.

Kelleher, B.P., Simpson, M.J. y Simpson, A.J. (2006). Assessing the fate and transformation of plant residues in the terrestrial environment using HR-MAS NMR spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 70, 4080–4094.

Khan, S.U. (1980). *Pesticides in the Soil Environment*. Elsevier, Amsterdam.

Knisel, W.G., Davis, F.M., Leonard, R.A., y Nicks, A.D. (1993). GLEAMS Version 2.10 Part III: Users Manual. En: *GLEAMS Groundwater Loading Effects of Agricultural Management Systems*, ver. 2.10, ed. W.G. Knisel. Tifton, Ga.: USDA-ARS Southeast Watershed Research Laboratory.

Kodesová, R., Kocárek, M., Kodes, V., Drábek, O., Kozák, J. y Hejtmánková, K. (2010). Pesticide adsorption in relation to soil properties and soil type distribution in regional scale. *J. Hazard. Mater.* DOI:10.1016/j.jhazmat.2010.11.040.

Komárek, M., Čadková, E., Chrástný, V., Bordas, F. y Bollinger, J-C (2010). Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environ. Int.*, 36, 138–151.

Konda, L.N., Czinkota, I., Füleky, G., y Morovjän, G. (2002). Modeling of single-step and multistep adsorption isotherms of organic pesticides on soils. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 7326-7331.

Konstantinou, I.K., Hela, D.G. y Albanis, T.A. (2006). The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. *Environ. Poll.*, 141, 555-570.

Kookana, R.S. y Aylmore, L.A.G. (1993). Mechanisms and modelling of herbicide mobility and potential for groundwater pollution: an overview. En: *International Symposium Indian Society of Weed Science*. Hisar, India, pp. 129-143.

Kookana, R.S., Baskaran, S. y Naidu, R. (1998). Review. Pesticide fate and behaviour in Australian soils in relation to contamination and management of soil and water. *Aust. J. Soil Res.*, 36, 715-764.

Koskinen, W.C., y Harper, S.S. (1990). The retention process: Mechanisms. H.H. Cheng (Ed.), En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, pp. 51-77.

Kotrikla, A., Gatidou, G. y Lekkas, T.D. (2006). Monitoring of triazine and phenylurea herbicides in the surface waters of Greece. *J. Environ. Sci. Health B*, 41, 135-144.

Kozak, J. (1996). Soil Organic Matter as a Factor Influencing the Fate of Organic Chemicals in the Soil Environment. A. Piccolo (Ed.), En: *Humic substances in Terrestrial Ecosystem*. Elsevier, Amsterdam, pp. 625-664.

Kuo, W.S. y Regan, R.W. (1999). Removal of pesticides from rinsate by adsorption using agricultural residuals as medium. *J. Environ. Sci. Health B*, 34, 431-447.

Kuster, M., de Alda, M.J., Hernando, M.D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J. y Barceló D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *J. Hydrol.*, 358, 112-123.

L

Laabs, V., Amelung, W., Pinto, A., Altstaedt, A. y Zech, W. (2000). Leaching and degradation of corn and soybean pesticides in an Oxisol of the Brazilian Cerrados. *Chemosphere*, 41, 1441-1449.

Larsbo, M., Aamlid, T.S., Persson, L. y Jarvis, N. (2008). Fungicide leaching from golf greens: Effects of root zone composition and surfactant use. *J. Environ. Qual.*, 37, 1527-1535.

- Law, W.M., Lau, W.N., Lo, K.L., Wai, L.M. y Chiu, S.W. (2003).** Removal of biocide pentachlorophenol in water system by the spent mushroom compost of *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere*, 52, 1531–1537.
- Leonard, R.A. (1990).** Movement of pesticides into surface waters. H.H. Cheng (Ed.), En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, pp. 303-320.
- Li, K., Xing, B. y Torello, W. (2005).** Effects of organic fertilizer derived dissolved organic matter on pesticides sorption and leaching. *Environ. Pollut.* 134, 187–194.
- Liu, W., Gan, J., Papiernik, S.K. y Yates, S.R. (2000).** Structural influences in relative sorptivity of chloroacetanilide herbicides on soil. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4320–4323.
- Lorenzo-Martín, L.F.; Arienzo, M. y Sánchez-Camazano, M. (1994).** Mobility of herbicides in natural soils columns. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.*, 25, 375-383.

M

- Ma, Q.L., Holland, P.T., James, T.K., McNaughton, D.E. y Rahman, A. (2000).** Persistence and leaching of the herbicides acetochlor and terbuthylazine in an allophonic soil: comparisons of field results with PRZM-3 predictions. *Pest. Manag. Sci.*, 56, 159-167.
- Mahía, J. y Díaz-Raviña, M. (2007).** Atrazine degradation and residues distribution in two acid soils from temperate humid zone. *J. Environ. Qual.*, 36, 826-831.
- Maity, A. y Mukherjee, I. (2009).** Assessment of iprovalicarb, a systemic fungicide in/on cabbage (*Brassica oleracea* var. capitata). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 83, 341-347.
- Majumdar, K. y Singh, N. (2007).** Effect of soil amendments on sorption and mobility of metribuzin in soils. *Chemosphere*, 66, 630–637.
- Malone, R. W., Warner, R. C., Workman, S. R. y Byers, M. E. (1999).** Modeling surface and subsurface pesticide transport under three field conditions using PRZM-3 and GLEAMS. *Soil & Water Division of American Society of Agricultural Engineers*, 42, 1275-1287.
- Mamy, L. y Barriuso, E. (2007).** Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 58, 174–187.
- Mamy, L. Barriuso, E. y Gabrielle, B. (2005).** Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest. Manag. Sci.*, 61, 905-916.
- Mamy, L., Gabrielle, B. y Barriuso, E. (2008).** Measurement and modelling of glyphosate fate compared with that of herbicides replaced as a result of the introduction of glyphosate-resistant oilseed rape. *Pest. Manag. Sci.*, 64, 262-275.
- MAPA (1986).** MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). *Métodos oficiales de análisis* (en español). Dirección General de Política Alimentaria. Secretaría general Técnica del M.A.P.A. (Ed.). Madrid. Tomo III, pp.93-208.
- Marín-Benito, J.M., Sánchez-Martín, M.J., Andrades, M.S., Pérez-Clavijo, M. y Rodríguez-Cruz, M.S. (2009).** Effect of spent mushroom substrate amendment of vineyard soils on the behavior of

fungicidas: 1. Adsorption-desorption of penconazole and metalaxyl by soils and subsoils. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 9634–9642.

Marín-Benito, J.M., Rodríguez-Cruz, M.S., Andrades, M.S., Pérez Clavijo, M., García Escudero, E. y Sánchez-Martín, M.J. (2008). Adsorción-desorción de dos fungicidas en suelos de viñedo de La Rioja enmendados con sustrato postcultivo de hongos. En: *VI Foro Mundial del Vino*; Gobierno de La Rioja, España. (15 pp).

MARM (2005). MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). *Real Decreto 824/2005 sobre productos fertilizantes*. Ministerio de la Presidencia, BOE 171 de 19 julio 2005, pp. 25592-25669.

MARM (2007). MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). *Registro de productos fertilizantes*. INTRACOMPOST-SPCH-SPS, nº registro: F0000534/2017, 25 mayo 2007.

Martín, I., Larrieta, C., Martínez, J.M., Domínguez, N., Benito, A., Pérez, E.P., Peregrina, F., Pérez, M. y García-Escudero, E. (2009). Efecto de la aplicación de Sustrato Postcultivo del Champiñón en las propiedades de un suelo vitícola. *Boletín de la Asociación Española de Cultivadores de Champiñón*, 57, 17-28.

Martínez-Vidal, J.L., González-Rodríguez, M.J., Belmonte-Vega A. y Garrido-Frenich, A. (2004). Estudio de la contaminación por pesticidas en aguas ambientales de la provincia de Almería. *Ecosistemas*, 13, 30-38.

Masaguer, A., Benito, M. y De Antonio, R. (2002). Compostaje y gestión de residuos orgánicos procedentes del cultivo de champiñón y setas en la comarca de la Manchuela. En: *XXVIII Conferencia anual ATEGRUS: Tratamiento biológico de residuos*; Valencia, España. (10 pp).

Matthews, G. (2008). *Pesticides: Health, safety and the environment*. Blackell Publishing. Ascot, Berkshire, Reino Unido. 2ª edn., pp. 1-8, 133-146 y 184-185.

Mazzoncini, M. y Bonari, E. (1997). The relationship between soil tillage and herbicide dissipation. State of the art. En : *Effects of Tillage Systems on Herbicide Dissipation*.

Miglioranza, K., Aizpún De Moreno, J., y Moreno,V. (2003). Dynamics of organochlorine in soils from a southeastern region of Argentina, *Environ. Toxicol. Chem.*, 22, 712-717.

Miller, G.C. y Zepp, R.G. (1983). Extrapolating photolysis rates from the laboratory to the environment. *Residue Rev.*, 85, 89-110.

Monkiedje, A. y Spiteller, M. (2005). Degradation of metalaxyl and mefenoxam and effects on the microbiological properties of tropical and temperate soils. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2, 272-285.

Morillo, E., Maqueda, C., Reinoso, R. y Undabeytia, T. (2002). Effect of two organic amendments on nonflurazon retention and release by soils of different characteristics. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 4319-4325.

Müller, K., Magesan, G.N. y Bolan, N.S. (2007). A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 120, 93-116.

N

Navarro, S., Vela, N. y Navarro, G. (2007). Review. An overview on the environmental behaviour of pesticide residues in soils. *Span. J. Agric. Res.*, 5, 357-375.

Neumann, M., Liess, M. y Schulz, R. (2003). A qualitative sampling method for monitoring water quality in temporary channels or point sources and its application to pesticide contamination. *Chemosphere*, 51, 509–513.

Neumans, E., Clarke, E.D. y Copin, R. (2000). A study of volatilization of pesticides from soil under laboratory conditions. *Meded Fac Landbouwkd Toegepaste Biol. Wet (Univ. Gent)*, 65, 979-989.

O

Oerke, E.-C. y Dehne, H.-W. (2004). Safeguarding production – losses en major crops and the role of crop protection. *Crop Prot.*, 23, 275-285.

P

Palma, G., Sánchez, A., Olave, Y., Encina, F., Palma, R., y Barra, R. (2004). Pesticides levels in surfaces waters in an agricultural-forestry basin in Southern Chile. *Chemosphere*, 57, 763-770.

Patakioutas, G.I., Karras, G., Hela, D. y Albanis, T.A. (2002). Pirimiphos-methyl and benalaxyl losses in surface runoff from plots cultivated with potatoes *Pest. Manag. Sci.*, 58, 1194–1204.

Pesaro, M., Nicollier, G., Zeyer, J., Widmer, F. (2004). Impact of soil drying-rewetting stress on microbial communities and activities on degradation of two crop protection products. *Appl. Environ. Microb.*, 70, 2577-2587.

Petrovic, A.M., Barrett, W.C., Kovach, I.M.L., Reid, C.M. y Lisk, D.J. (1996). The influence of a peat amendment and turf density on downward migration of metalaxyl fungicide in creeping bentgrass sand lysimeters. *Chemosphere*, 33, 2335-2340.

Phong, T.K., Yoshino, K., Hiramatsu, K., Harada, M. y Inoue, T. (2010). Pesticide discharge and water management in a paddy catchment in Japan. *Paddy Water Environ.*, 8, 361–369.

Piccolo, A., Gatta, L. y Campanella, L. (1995). Interactions of glyphosate herbicide with a humic-acid and its iron complex. *Annali di Chim.*, 85, 31-40.

Q

Qiu, Y., Xiao, X., Cheng, H., Zhou, Z. y Sheng, G.D. (2009). Influence of Environmental Factors on Pesticide Adsorption by Black Carbon: pH and Model Dissolved Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 4973–4978.

R

Ran, Y., Huang, W., Rao, P.S.C., Liu, D., Sheng, G. y Fu, J. (2002). The role of condensed organic matter in the nonlinear sorption of hydrophobic organic contaminants by a peat and sediments. *J. Environ. Qual.*, 31, 1953–1962.

Regitano, J.B. y Koskinen, W.C. (2008). Characterization of nicosulfuron availability in aged soils. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 5801–5805.

Reichenberger, S., Bach, M., Skitschak, A. y Frede H.-G. (2007). Review. Mitigation strategies to reduce pesticide inputs into ground- and surface water and their effectiveness. *Sci. Total Environ.*, 384, 1–35.

- Reid, B.J., Fervor, T.R. y Semple, K.T. (2002).** Induction of PAH-catabolism in mushroom compost and its use in the biodegradation of soil-associated phenanthrene. *Environ. Pollut.*, 118, 65–73.
- Reid, B.J., MacLeod, C.J.A., Lee, P.H., Morriss, A.W.J., Stokes, J.D. y Semple, K.T. (2001).** A simple ¹⁴C-respirometric method for assessing microbial catabolic potential and contaminant bioavailability. *FEMS Microbiol. Lett.*, 196, 141-146.
- Robert, M. (1975).** Principes de determination qualitative des mineraux argileux a l'aide des rayons X. *An. Agron.*, 26, 363-399.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Andrades, M.S., Parada, A.M. y Sánchez-Martín, M.J. (2008b).** Effect of different wood pretreatments on the sorption-desorption of linuron and metalaxil by woods. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 7339-7346.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Andrades, M.S., Sánchez-Camazano, M. y Sánchez-Martín, M.J. (2007b).** Relationship between the adsorption capacity of pesticides by wood residues and the properties of woods and pesticides. *Environ. Sci. Technol.*, 41, 3613-3619.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Andrades, M.S., y Sánchez-Martín, M.J. (2008a).** Significance of the long-chain organic cation structure in the sorption of the penconazole and metalaxyl fungicides by organo clays. *J. Hazard. Mater.*, 160, 200-207.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Herrero-Hernández, E., Ordax, J.M., Marín-Benito, J.M., Draoui, K., Sánchez-Martín, M.J. (2011b).** Adsorption of pesticides by sewage sludge, grape marc, spent mushroom substrate and by amended soils. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* Aceptada.
- Rodríguez-Cruz M.S., Jones, E. y Bending, G.D. (2006).** Field-scale study of the variability in pesticide biodegradation with soil depth and its relationship with soil characteristics. *Soil Biol. Biochem.*, 38, 2910–2918.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Marín-Benito, J.M., Ordax, J.M., Azejjel, H. y Sánchez-Martín, M.J. (2011a).** Influence of pine or oak wood on the degradation of alachlor and metalaxyl in soil. *J. Environ. Manag.*, DOI:10.1016/j.jenvman.2010.10.043.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Sánchez-Martín, M.J., Andrades, M.S., y Sánchez-Camazano, M. (2007a).** Modification of clay barriers with a cationic surfactant to improve the retention of pesticides in soils. *J. Hazard. Mater.*, 139, 363-372.
- Rodríguez-Cruz, M.S., Valderrábano, M., del Hoyo, C. y Sánchez-Martín, M. (2009).** Physicochemical study of the sorption of pesticides by wood components. *J. Environ. Qual.*, 38, 719–728.
- Romero, E., Fernández-Bayo, J., Castillo-Díaz, J.M. y Nogales, R. (2010).** Enzyme activities and diuron persistence in soil amended with vermicompost derived from spent grape marc and treated with urea. *Appl. Soil Ecol.*, 44, 198-204.
- Rusell, M.H. y Jones, R.L. (2002).** Comparison of Pesticide Root Zone Model 3.12: Leaching predictions with field data. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 1552–1557.
- Rutherford, D.W., Chiou, C.T. y Kile, D.E. (1992).** Influence of soil organic matter composition on the partition of organic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 26, 336-340.

Rütters, H., Höllrigl-Rosta, A., Kreuzig, R. y Bahadir, M. (1999). Sorption behaviour of prochloraz in different soils. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1242-1246.

S

Sakellarides, T.M. y Albanis, T.A. (2000). A new organophosphorus insecticides removal process using fly ash. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 78, 249-262.

Sánchez, L., Romero, E. y Peña, A. (2003b). Ability of biosolids and a cationic surfactant to modify methidathion leaching. Modelling with pescol. *Chemosphere*, 53, 843-850.

Sánchez, L., Romero, E., Sánchez-Rasero, F., Dios, G. y Peña, A. (2003a). Enhanced soil sorption of methidathion using sewage sludge and surfactants. *Pest. Manag. Sci.*, 59, 857-864.

Sánchez-Camazano, M., González-Pozuelo, J.M., Sánchez-Martín, M.J. y Crisanto, T. (1994). Adsorption and mobility of acephate in soils. *Ecotox. Environ. Saf.*, 29, 61-69.

Sánchez-Camazano, M., Lorenzo, L.F. y Sánchez-Martín, M.J. (2005). Atrazine and alachlor inputs to surface and ground waters in irrigated corn cultivation areas of Castilla-Leon region, Spain. *Environ. Monit. Assess.*, 105, 11-24.

Sánchez-Camazano, M., Sánchez-Martín, M.J. y Delgado-Pascual, R. (2000). Adsorption and mobility of linuron in soils as influenced by soil properties, organic amendments, and surfactants. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 3018-3026.

Sánchez-Martín, M.J., Andrades, M.S. y Sánchez-Camazano, M. (2000). Soil properties influencing the adsorption and mobility of penconazole in vineyard soils. *Soil Sci.*, 165, 951-960.

Sánchez-Martín, M.J., Rodríguez-Cruz, M.S., Andrades, M.S. y Sánchez-Camazano, M. (2006). Efficiency of different clay minerals modified with a cationic surfactant in the adsorption of pesticides. Influence of clay type and pesticide hydrophobicity. *Appl. Clay Sci.*, 31, 216- 228.

Sánchez-Martín, M.J. y Sánchez-Camazano, M. (1984). Aspects of the adsorption of azinphosmetil by smectites. *J. Agric. Food Chem.*, 32, 720-725.

Sankararamkrishnan, N., Sharma, A.K. y Sanghi, R. (2004). Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in ground water and surface waters of Kanpur, Uttar Pradesh, India. *Environ. Int.*, 31, 113-120.

Sasek, V., Bhatt, M., Cajthaml, T., Malachová, K. y Lednická, D. (2003). Compost-mediated removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 44, 336-342.

Schroll, R., Dorfler, U. y Scheunert, I. (1999). Volatilization and mineralization of ¹⁴C-labelled pesticides on lysimeter surfaces. *Chemosphere*, 39, 595-602.

Semple, K.T., Doick, K.J., Buraue, P., Craven, A., Harms, H. y Jones, K.C. (2004). Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated. *Environ. Sci. Technol.*, 38, 228-231.

Semple, K.T., Watts, N.U. y Fermor, T.R. (1998). Factors affecting the mineralization of [U-14C]benzene in spent mushroom substrate. *FEMS Microbiol. Lett.*, 164, 317-321.

- Senesi, N. (1992).** Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Sci. Total Environ.*, 123/124, 63-76.
- Senesi, N., D’Orazio, V. y Miano, T.M. (1995).** Adsorption mechanisms of s-triazine and bipyridylum herbicides on humic acids from hop field soils. *Geoderma*, 66, 273–283.
- Senesi, N., Testini, C. y Metta, D. (1984).** Binding of chlorophenoxy-alkanoic herbicides from aqueous solution by soil humic acids. En: *International Conference on Environmental Contamination*, Londres, pp.96-101.
- Sharma, D. y Awasthi, M.D. (1997).** Adsorption and movement of metalaxyl in soils under unsaturated flow conditions. *Plant Soil*, 195, 293-298.
- Sharma, M.L. y Taniguchi, M. (1991).** Movement of a non-reactive solute tracer during steady and intermittent leaching. *J. Hydrol.*, 128, 323-334.
- Sheng, G., Johnson, C.T., Teppen, B.J. y Boyd, S.A. (2001).** Potential contribution of smectite clays and organic matter to pesticide retention in soils. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2899–2907.
- Shomar, B.H., Müller, G. y Yahya, A. (2006).** Occurrence of pesticides in groundwater and topsoil of the Gaza Strip. *Water Air Soil Pollut.*, 171, 237–251.
- Si, Y., Zhang, J., Wang, S., Zhang, L. y Zhou, D. (2006).** Influence of organic amendment on the adsorption and leaching of ethametsulfuron-methyl in acidic soils in China. *Geoderma*, 130, 66-76.
- Šimůnek, J., Šejna, M., Saito, H., Sakai, M. y van Genuchten, M.Th. (2008).** The Hydrus-1D Software Package for Simulating the Movement of Water, Heat, and Multiple Solutes in Variably Saturated Media, Version 4.0, HYDRUS Software Series 3, Department of Environmental Sciences, Univ. California Riverside, Riverside, CA, USA, 315 pp.
- Singh, N. (2002).** Sorption behaviour of triazole fungicides in Indian Soils and its correlation with soil properties. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 6434-6439.
- Singh, N. (2005).** Mobility of four triazole fungicides in two Indian soils. *Pest Manag. Sci.*, 61,191-196.
- Singh, N. (2008).** Biocompost from sugar distillery effluent: effect on metribuzin degradation, sorption and mobility. *Pest Manag. Sci.*, 64, 1057-1062.
- Singh, N. (2009).** Adsorption of herbicides on coal fly ash from aqueous solutions. *J. Hazard. Mater.*, 168, 233-237.
- Singh, N. y Dureja, P. (2009).** Effect of Biocompost-Amendment on Degradation of Triazoles Fungicides in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 82, 120–123.
- Sjöström, E. (1993).** *Wood Chemistry: Fundamentals and applications*. Academic Press, New York.
- Smith, J., Smith, P., y Addiscott, T. (1996).** Quantitative methods to evaluate and compare soil organic matter (SOM) models. *NATO ASI Series*, 38,181–199.
- Song, N.H., Chen, L. y Yang, H. (2008).** Effect of dissolved organic matter on mobility and activation of chlorotoluron in soil and wheat. *Geoderma*, 146, 344-352.

Sonon, L.S. y Schwab, A.P. (1995). Adsorption characteristics of atrazine and alachlor in Kansas soils. *Weed Sci.*, 43, 461-466.

Spliid, N.H., Helweg, A. y Heinrichson, K. (2006). Leaching and degradation of 21 pesticides in a full-scale model biobed. *Chemosphere*, 65, 2223–2232.

Spokas, K., Koskinen, W.C., Baker, J.M. y Reicosky, D.C. (2009). Impacts of woodchip biochar additions on greenhouse gas production and sorption/degradation of two herbicides in a Minnesota soil. *Chemosphere*, 77, 574-581.

Stevenson, F.J. (1994). Organic matter reactions involving pesticides in soil. John Wiley and Sons (Eds.), En: *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. New York. pp. 453-471.

Stewart, D.P.C., Cameron, K.C. y Cornforth, I.S. (1998a). Effects of spent mushroom substrate on soil chemical conditions and plant growth in an intensive horticultural system: a comparison with inorganic fertiliser. *Aust. J. Soil Res.*, 36, 185-198.

Stewart D.P.C., Cameron, K.C., Cornforth I.S. y Sedcole, J.R. (1998b). Effects of spent mushroom substrate on soil physical conditions and plant growth in an intensive horticultural system. *Aust. J. Soil Res.*, 36, 899-912.

Stoate, C., Boatman, N.D., Borralho, R.J., Rio Carvalho, C., de Snoo, G.R. y Eden, P. (2001). Ecological impacts of arable intensification in Europe. *J. Environ. Manag.*, 63, 337-365.

Sukul, P. y Spiteller, M. (2000). Metalaxyl: persistence, degradation, metabolism, and analytical methods. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 164, 1-26.

Sukul, P. y Spiteller, M. (2001a). Influence of biotic and abiotic factor on dissipating metalaxyl in soil. *Chemosphere*, 45, 941-947.

Sukul, P. y Spiteller, M. (2001b). Persistence, fate, and metabolism of [¹⁴C]-Metalaxil in typical Indian soils. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2352-2358.

T

Tabatabai, M.A. (1994). Soil enzymes. Weaver, R.W. (Ed.), En: *Methods of Soil Analysis: Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, pp. 903–947.

Tang, J. y Weber, W.J. (2006). Development of engineered natural organic sorbents for environmental applications. 2. Sorption characteristics and capacities with respect to phenanthrene. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 1657–1663.

Taylor, A.W. y Spencer, W.F. (1990). Volatilization and vapor transport processes. H.H. Cheng (Ed.), En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, USA, pp. 213-216.

Tessier, D., Bigorre, F. y Bruand, A. (1999). La capacité d'échange: outil de prévision des propriétés physiques des sols. *CR Acad. Agric. Fr.*, 85, 37–46.

Tomlin, C.D.S. (2000). *The Pesticide Manual*. British Crop Protection Council, Cambridge, UK, 12^a edn.

Torrents, A., Jayasundera, S. y Schmidt, W.J. (1997). Influence of the polarity of organic matter on the sorption of acetamide pesticides. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3320–3325.

V

van Maasen, J.M.S., de Vaan, M.A.J., Veldstra, A.W.F. y Hendrix, W.P.A. (2001). Pesticides and nitrate in groundwater and rainwater in the province of Limburg in the Netherlands. *Monit. Assess.*, 72, 95–114.

Vanni, A., Anfossi, L., Cignetti, A., Baglieri, A. y Gennari, M. (2006). Degradation of pyrimethanil in soil: Influence of light, oxygen, and microbial activity. *J. Environ. Sci. Health B*, 41, 67–80.

Vanni, A., Fontana, F., Cignetti, A. y Gennari M. (2003). Behaviour of pyrimethanil in soil: abiotic and biotic processes. En: *Proceedings of the XII Symposium of Pesticide Chemistry*; Piacenza, Italia, pp. 233–238.

Vincent, A., Benoit, P., Pot, V., Madrigal, I., Delgado-Moreno, L. y Labat, C. (2007). Impact of different land uses on the migration of two herbicides in a silt loam soil: Unsaturated soil column displacement studies. *Eur. J. Soil Sci.*, 58, 320–328.

Voutsas, E., Vavva, C., Magoulas, K. y Tassios, D. (2005). Estimation of the volatilization of organic compounds from soil surfaces. *Chemosphere*, 58, 751–758.

W

Walker, A., Rodriguez-Cruz, M.S. y Mitchell, M.J. (2005). Influence of ageing of residues on the availability of herbicides for leaching. *Environ. Pollut.*, 133, 43–51.

Wang, X., Guo, X., Yang, Y., Tao, X. y Xing, B. (2011). Sorption mechanisms of phenanthrene, lindane, and atrazine with various humic acid fractions from a single soil sample. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 2124–2130.

Wang, X., Yang, K., Tao, S. y Xing, A. (2007). Sorption of aromatic organic contaminants by biopolymers: Effects of pH, copper (II) complexation, and cellulose coating. *Environ. Sci. Technol.*, 41, 185–191.

Ward, O.P. y Singh, A. (2004). Soil bioremediation and phytoremediation-An Overview. A. Singh, O.P. Ward (Eds.), En: *Soil Biology*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg. Vol.1 (Applied Bioremediation and Phytoremediation), pp. 1–12.

Weber, J.B., Weed, S.B. y Ward, T.M. (1969). Adsorption of s-triazines by soil organic matter. *Weed Sci.*, 17, 417–421.

Weber Jr., W.J., Tang, J. y Huang, Q. (2006). Development of Engineered Natural Organic Sorbents for Environmental Applications. 1. Materials, Approaches, and Characterizations. *Environ. Sci. Technol.*, 40, 1650–1656.

Werkheiser, W.O. y Anderson, S.J. (1996). Organic chemicals in the environment. Effect of soil properties and surfactant on primisulfuron sorption. *J. Environ. Qual.*, 25, 809–814.

West, P.J., Levanon, D. y Hadar, Y. (1995). *Environmental, Agricultural and Industrial Uses for Spent Mushroom Substrate from Mushroom Farms*, JG Press, Inc.: PA, USA.

Whitford, F., Wolt, J., Nelson, H., Barrett, M., Brichford, S. y Turco, R. (1995). *Pesticides and Water Quality Principles, Policies and Programs*. Purdue University Cooperative Extension Service, West Lafayette.

Widenfalk, A. (2002). *Pesticide Bioavailability in Aquatic Sediments- a Literature review*, Rapport, Department of Environmental Assessment Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. Inst. för miljöanalys, SLU, IMA.

Wolfe, N.L., Mingelgrin, U. y Miller, G.C. (1990). Abiotic transformations in water, sediments and soil. H.H. Cheng (Ed.), En: *Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts, and Modelling*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, Wisconsin, pp. 103-168.

X

Xing, B., McGill, W.B. y Dudas, M.J. (1994). Sorption of phenol by selected biopolymers: Isotherms, energetics, and polarity. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 466–473.

Xing, B. (2001). Sorption of naphthalene and phenanthrene by soil humic acids. *Environ. Pollut.*, 111, 303–309.

Y

Yu, X., Pan, L., Ying, G. y Kookana, R.S. (2010). Enhanced and irreversible sorption of pesticide pyrimethanil by soil amended with biochars. *J. Environ. Sci.*, 22, 615–620.

Z

Zhang, Z.L., Hong, H.S., Zhou, J.L. y Yu, G. (2002). Occurrence and behaviour of organophosphorus insecticides in the River Wuchuan, southeast China. *J. Environ. Monit.*, 4, 498-504.

Zmora-Nahum, S., Hadar, Y. y Chen, Y. (2007). Physico-chemical properties of commercial composts varying in their source materials and country of origin. *Soil Biol. Biochem.*, 39, 1263–1276.

Páginas web:

www.aepla.es. Página web de la Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas. Fecha consulta: abril 2011.

www.larioja.org. Estadística Agraria Regional 2008. Gobierno Regional de La Rioja. España (2008). Fecha consulta: abril 2011.

www.marm.es. Banco Público de Indicadores Ambientales del Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, España (2011). Fecha consulta: julio 2011.

www.riojawine.com. Consejo Regulador de Denominación de Origen Calificada Rioja, España (2009). Fecha consulta: abril 2011.