

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**



**“EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL DE LOS PESTICIDAS  
METAMIDOFOS, ALFA-CIPERMETRINA Y SU MEZCLA EN  
*Eisenia andrei*”**

Presentada por:

**KATHERIN DEIRA PEÑA CÓRDOVA**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

Lima – Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA  
FACULTAD DE CIENCIAS**

**“EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL DE LOS PESTICIDAS  
METAMIDOFOS, ALFA-CIPERMETRINA Y SU MEZCLA EN  
*Eisenia andrei*”**

Presentada por:

**KATHERIN DEIRA PEÑA CÓRDOVA**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

---

Ph.D. Lizardo Visitación Figueroa  
PRESIDENTE

---

Dra. Rosemary Vela Cardich  
MIEMBRO

---

Mg.Quim. Mary Flor Césare Coral  
MIEMBRO

---

Ph.D. Lisveth Flores del Pino  
ASESORA

---

Dr. José Alberto Iannacone Oliver  
CO-ASESOR

## **DEDICATORIA**

A Dios, quien me da la fuerza y sabiduría.

A mis padres, Catalina y Augusto, por su inmenso apoyo y fuente de aliento para lograr todos mis objetivos.

A todas las personas que brindaron apoyo a esta investigación.

## **AGRADECIMIENTO**

Hay varias personas sin las cuales esta tesis no podría haber sido realizada. Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a:

- Mi familia, por el enorme apoyo y valiosos ánimos.
- Mi patrocinadora, Ph. D. Lisveth Flores del Pino, por haberme brindado la confianza e invaluable soporte durante todo el proceso.
- Al Dr. José Innacone, por compartirme su valiosa experiencia.
- A la Estación de Producción e Investigación en Lombricultura (EPILO) del Proyecto CEMTRAR (Centro Modelo de Tratamiento de Residuos), por haberme brindado las facilidades necesarias para el desarrollo de la investigación.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN .....</b>	<b>x</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>xi</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1 ANTECEDENTES .....	3
2.1.1 USO DE PLAGUICIDAS A NIVEL MUNDIAL .....	3
2.1.2 USO DE PLAGUICIDAS Y SU IMPACTO EN EL PERÚ .....	5
2.1.3 EXPERIENCIAS INTERNACIONALES DE BUENAS PRÁCTICAS .....	6
2.1.4 LEGISLACIÓN .....	9
2.1.5 ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS CON PLAGUICIDAS .....	13
2.2 ASPECTOS GENERALES .....	16
2.2.1 TOXICOLOGÍA AMBIENTAL .....	16
2.2.2 BIOMARCADORES .....	17
2.2.3 CURVA DOSIS-RESPUESTA Y PUNTOS FINALES .....	18
2.2.4 TOXICOLOGÍA TERRESTRE .....	20
2.2.5 LOMBRICES DE TIERRA .....	20
2.2.6 PLAGUICIDAS .....	27
2.2.7 EVALUACIÓN DE TOXICIDAD EN SISTEMAS TERRESTRES .....	36
2.2.8 EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL .....	41
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
3.1 MATERIALES Y EQUIPOS .....	45
3.2 PREPARACIÓN DE SUELO ARTIFICIAL .....	46
3.3 SUELO AGRÍCOLA .....	47

3.4 SUSTANCIAS PRUEBA.....	49
3.4.1 METAMIDOFOS.....	49
3.5 SELECCIÓN DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA.....	50
3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	51
3.6.1 ALFA-CIPERMETRINA.....	53
3.6.2 TÓXICO DE REFERENCIA.....	54
3.6.3 PLAGUICIDAS.....	54
3.6.4 MEZCLA.....	54
3.6.5 SUELO AGRÍCOLA.....	55
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS.....	56
3.8 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL <sub>50</sub> ) y DOSIS EFECTIVA MEDIA (DE <sub>50</sub> ).....	57
3.9 EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL.....	58
3.9.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN AMBIENTAL ESTIMADA (PEC).....	60
3.9.2 CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO.....	62
3.9.3 DETERMINACIÓN DEL EFECTO TÓXICO DE LA MEZCLA.....	63
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>64</b>
4.1 CARÁCTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS SUELOS.....	64
4.1.1 SUELO ARTIFICIAL.....	64
4.1.2 SUELO AGRÍCOLA.....	65
4.2 ENSAYO DE TOXICIDAD DEL TÓXICO DE REFERENCIA.....	68
4.3 ENSAYO DE TOXICIDAD INDIVIDUAL DE PLAGUICIDAS.....	69
4.3.1 METAMIDOFOS.....	69
4.3.2 ALFA-CIPERMETRINA.....	76
4.4 ENSAYO DE TOXICIDAD DE LA MEZCLA.....	81
4.5 ENSAYO DE TOXICIDAD SUELO AGRÍCOLA.....	89
4.6 EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL.....	101

<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>112</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>114</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>115</b>
<b>VIII. ANEXOS.....</b>	<b>128</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Experiencias internacionales en la formulación e implementación de políticas para racionalizar el uso de los plaguicidas .....	4
Tabla 2: Plaguicidas agrícolas prohibidos y restringidos en el Perú .....	11
Tabla 3: Estudios toxicológicos de metamidofos en lombrices de tierra .....	13
Tabla 4: Estudios toxicológicos de alfa-cipermetrina en lombrices de tierra.....	13
Tabla 5: Pruebas con suelo artificial en <i>Eisenia fetida</i> de los tipos plaguicidas evaluados ..	9
Tabla 6: Efectos de mezcla pesticidas en las lombrices de tierra .....	8
Tabla 7: Tipos de lombrices de tierra .....	23
Tabla 8: Toxicidad comparativa entre diferentes especies de lombriz de tierra .....	26
Tabla 9: Calificación de la toxicidad de la lombriz de tierra.....	26
Tabla 10: Valores comparativos de toxicidad agua (mortalidad) entre la lombriz de tierra y el ratón .....	27
Tabla 11: Clasificación de pesticidas .....	28
Tabla 12: Clasificación química de pesticidas .....	29
Tabla 13: Clasificación de pesticidas (WHO) .....	30
Tabla 14: Propiedades fisicoquímicas del Metamidofos .....	34
Tabla 15: Clasificación de los peligros del metamidofos por organismos internacionales.	34
Tabla 16: Propiedades fisicoquímicas del Alfa-cipermetrina.....	36
Tabla 17: Tipos de pruebas de toxicidad aguda .....	37
Tabla 18: Ensayos de toxicidad subletal .....	40
Tabla 19: Cantidad de suelo artificial preparado.....	47
Tabla 20: Cantidad de suelo artificial total utilizado en cada ensayo .....	47
Tabla 21: Diseño experimental – Mezcla de plaguicidas (Ensayo 4).....	55
Tabla 22: Diseño experimental – Suelo agrícola (Ensayo 5 y 6) .....	55
Tabla 23: Datos considerados para el cálculo del PEC .....	61
Tabla 24: Propiedades fisicoquímicas del suelo artificial .....	65
Tabla 25: Propiedades fisicoquímicas del suelo agrícola .....	66
Tabla 26: Resultados de concentración de plaguicidas .....	67



Tabla 27: Efecto de metamidofos en la mortalidad (%) de <i>E. andrei</i> .....	70
Tabla 28: Efectos de metamidofos en el peso (mg) de <i>E. andrei</i> .....	73
Tabla 29: Efecto de alfa-cipermetrina en la mortalidad (%) de <i>E. andrei</i> .....	77
Tabla 30: Efecto de alfa-cipermetrina en el peso (mg) de <i>E. andrei</i> .....	79
Tabla 31: Efecto de la exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina) en la mortalidad (%) de <i>E. andrei</i> .....	82
Tabla 32: Efecto de la exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina) en el peso (mg) de <i>E. andrei</i> .....	83
Tabla 33: Parámetros toxicológicos de la exposición de mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina) de <i>E. andrei</i> .....	84
Tabla 34: Unidades tóxicas (UT) – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina)	88
Tabla 35: Efecto del suelo agrícola “A” en la mortalidad (%) de <i>E. andrei</i> .....	90
Tabla 36: Efecto del suelo agrícola “A” en el peso (mg) de <i>E. andrei</i> .....	92
Tabla 37: Efecto del suelo agrícola “B” en la mortalidad (%) de <i>E. andrei</i> .....	94
Tabla 38: Efecto del suelo agrícola “B” en el peso (mg) de <i>E. andrei</i> .....	95
Tabla 39: Características, propiedades y uso de plaguicidas presentes en el suelo agrícola.....	97
Tabla 40: Concentración y toxicidad de plaguicidas reportados en el suelo agrícola.....	99
Tabla 41: Cálculo de la concentración ambiental estimada (PEC) de metamidofos y alfa-cipermetrina .....	102
Tabla 42: Cálculo del PNEC para los plaguicidas en estudio – Exposición individual ....	103
Tabla 43: Cálculo del PNEC para los plaguicidas en estudio – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina).....	103
Tabla 44: Cálculo de coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y DL <sub>50</sub> – Exposición individual.....	104
Tabla 45: Cálculo del coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y NPEC – Exposición individual.....	105
Tabla 46: Cálculo de coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y DL <sub>50</sub> – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina).....	107
Tabla 47: Cálculo del coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y NPEC – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina).....	108
Tabla 48: Datos iniciales para preparación de cada Unidad Experimental de Cloruro de potasio (KCL).....	166

Tabla 49: Datos iniciales para preparación de cada Unidad Experimental de Metamidofos.....	167
Tabla 50: Datos iniciales para preparación de cada Unidad Experimental de Alfa-cipermetrina.....	168

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mercado mundial de plaguicidas 1983-2013 .....	3
Figura 2: Mercado mundial de pesticidas por tipo en el año 2013.....	4
Figura 3: Ventas mundiales de pesticidas por cultivos principales.....	4
Figura 4: Funciones del ingreso de una sustancia al medio ambiente - Toxicología ambiental .....	16
Figura 5: Curva dosis-respuesta .....	18
Figura 6: Morfología interna general de la lombriz de tierra <i>Eisenia sp.</i> .....	21
Figura 7: Efecto de contaminantes en las lombrices de tierra.....	25
Figura 8: Descripción general del destino y las vías de transporte de los plaguicidas en el medio ambiente .....	31
Figura 9: Estructura molecular del metamidofos .....	33
Figura 10: Estructura molecular del alfa-cipermetrina.....	35
Figura 11: Proceso general de la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA).....	42
Figura 12: Componentes del suelo artificial preparado.....	46
Figura 13: Mapa de ubicación del lugar de muestreo.....	48
Figura 14: Preparación de los organismos de prueba previo al ensayo.....	51
Figura 15: Aplicación de la dilución de plaguicida a cada unidad experimental.....	49
Figura 16: Agregado de lombrices a cada unidad experimental .....	49
Figura 17: Unidades experimentales finales.....	53
Figura 18: Diagrama de flujo de los ensayos de toxicidad aguda con <i>E. andrei</i> .....	57
Figura 19: Procedimiento de evaluación de riesgo ambiental.....	59
Figura 20: Curva dosis respuesta (mortalidad) – Metamidofos (OECD/Suelo artificial) en <i>E. andrei</i> . .....	71
Figura 21: Variación del peso de <i>E. andrei</i> a los día 0, día 7 y día 14 por acción del Metamidofos.....	74
Figura 22: Comportamiento de enroscamiento corporal de <i>E. andrei</i> ante la exposición de metamidofos, después de 7 días de exposición. Control (Izquierda) y C <sub>3</sub> Tratamiento (derecha) .....	74

Figura 23: Curva dosis-respuesta (mortalidad) - Alfa-cipermetrina (OECD/ Suelo artificial) en <i>E. andrei</i> .....	78
Figura 24: Variación del peso de <i>E. andrei</i> a los día 0, día 7 y día 14 – Alfa-cipermetrina	80
Figura 25: Curva dosis-respuesta (mortalidad) de la exposición mixta e individual del Metamidofos en <i>E. andrei</i> .....	85
Figura 26: Curva dosis – respuesta (mortalidad) – Exposición mixta e individual/ Alfa-cipermetrina en <i>E. andrei</i> .....	86
Figura 27: Variación del peso de <i>E. andrei</i> a los día 0, día 7 y día 14 – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina).....	87
Figura 28: Curva dosis – respuesta (mortalidad) /Suelo agrícola “A” en <i>E. andrei</i> .....	91
Figura 29: Variación del peso de <i>E. andrei</i> a los día 0, día 7 y día 14 – Suelo agrícola “A” .....	93
Figura 30: Variación del peso de <i>E. andrei</i> a los día 0, día 7 y día 14 – Suelo agrícola “B” .....	96

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Guía 207: “Earthworm, Acute Toxicity Tests” (OECD, 1984).....	129
ANEXO 2: Metodología de determinación de la capacidad de retención de agua (WHC).....	139
ANEXO 3: Resultados de la caracterización de suelo artificial y suelo agrícola.....	140
ANEXO 4: Informe de ensayo analítico de suelo agrícola A y suelo agrícola B.....	143
ANEXO 5: Ficha técnica del compuesto formulado MATADOR 600 SL .....	156
ANEXO 6: Ficha técnica del compuesto formulado CIPERMEX® SUPER 10 CE .....	160
ANEXO 7: Esquema de flujo de material de la planta de lombricultura .....	164
ANEXO 8: Cálculo de cantidades para la preparación de cada unidad experimental .....	165

## RESUMEN

En el Perú es común el uso intensivo de plaguicidas en dosis y frecuencias cada vez mayores a las sugeridas, lo cual genera una mayor resistencia a las plagas, así como un impacto negativo sobre el ecosistema terrestre y organismos no objetivos, que desempeñan un rol importante en el suelo. En este estudio se evaluó el efecto tóxico letal (mortalidad) y subletal (pérdida de peso) utilizando suelo artificial (SA), plaguicidas metamidofos, alfa-cipermetrina y la mezcla de ambos en un periodo de exposición de 7 y 14 días en la lombriz *Eisenia andrei*. Además, se realizó pruebas de toxicidad aguda con muestras de suelo agrícola y diluciones con SA (control, 6,25%; 12,5%; 25%; 50% y 100%) con el objetivo de evaluar condiciones de reales de campo. Los resultados de  $DL_{50}$  para la exposición individual metamidofos, alfa-cipermetrina fue de  $3,19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $274,82 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y para la exposición mixta fue de  $1,17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $37,01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , respectivamente. El efecto subletal (pérdida peso) mostró una reducción significativa a medida que el nivel de tratamiento aumentó en todos los ensayos realizados. El análisis de unidades tóxicas (UT) estableció que existe un comportamiento sinérgico ( $UT \text{ mixta} > UT \text{ individual}$ ). Para la evaluación de riesgo ambiental se establecieron tres escenarios y se evaluó el coeficiente de riesgo (CR) como ratio  $PEC/DL_{50}$  y ratio  $PEC/PNEC$ . Los resultados de  $PEC/DL_{50}$  evidencia que no existe un riesgo ambiental, no obstante, los resultados de  $PEC/PNEC$  demostraron que si existe riesgo ambiental y los valores obtenidos de CR fueron mayores en el escenario 3. El metamidofos evidenció un mayor efecto tóxico con respecto a alfa-cipermetrina y la exposición mixta demostró un efecto de mayor riesgo que la exposición individual.

**Palabras clave:** Alfa-cipermetrina, *Eisenia andrei*, metamidofos, riesgo ambiental, toxicidad aguda.

## SUMMARY

In Peru, the intensive use of pesticides at doses and frequencies greater than those suggested is common and generates greater resistance to pests, as well as an impact on the terrestrial ecosystem and non-objective organisms which plays very important role in the soil. In this study, the acute toxicity (mortality and weight loss) was evaluated using artificial soil (SA) spiked with pesticides methamidophos, alpha-cypermethrin and their mixture in an exposure period of 7 and 14 days in the earthworms *Eisenia andrei*. In addition, acute toxicity tests were carried out with agricultural soil samples and dilutions with SA (control, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% and 100%) to evaluate more realistic field conditions. The results of LD<sub>50</sub> for the individual exposure methamidophos, alpha-cypermethrin was 3,19 mg·kg<sup>-1</sup> and 274,82 mg·kg<sup>-1</sup> and for the mix was 1,17 mg·kg<sup>-1</sup> and 37,01 mg·kg<sup>-1</sup> respectively. The sublethal effect (loss weight) showed a significant reduction as the level of treatment increased in all trials performed. The toxic units analysis (TU) established a synergistic behavior (TU mix > TU individual). To evaluate the environmental risk assessment, three scenarios were established and the quotient risk (RQ) was evaluated as PEC/LD<sub>50</sub> ratio and the PEC/PNEC ratio. The PEC/ DL<sub>50</sub> results showed that there is no environmental risk; however, the PEC/PNEC the results showed that there is environmental risk and the values for RQ were higher in scenario 3. Methamidophos has greater toxic than the alpha-cypermethrin and the mix has higher risk than individual exposure.

**Keywords:** Alpha-cypermethrin, *Eisenia andrei*, methamidophos, environmental risk, acute toxicity.

## I. INTRODUCCIÓN

Las lombrices *E. andrei*/*E. foetida* son organismos que tiene un importante rol en la estructura y fertilidad de los suelos, siendo considerados uno de los mejores modelos para estudios de ecotoxicidad y modelo del entorno terrestre (OECD, 1984; Espinoza-Navarro y Bustos- Obregón, 2012; Pelosi *et al.*, 2013). Durante los últimos años, los biomarcadores de lombrices de tierra se han vuelto cada vez más relevantes para evaluación de los efectos de los contaminantes en los organismos del suelo (Lioneto, Calisi y Schettino, 2012)

El propósito de la toxicología en las lombrices de tierra es predecir los efectos de los plaguicidas en el campo sobre la base de experimentos, mediante pruebas de toxicidad en laboratorio (Yasmin y D'Souza 2010 y Alves *et al.*, 2013). Las pruebas de toxicidad constituyen un elemento esencial para la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA). Se usan para predecir efectos agudos y/o crónicos de nuevos productos químicos antes de su liberación al medio ambiente o para evaluar el impacto ecológico (predictivo). Además, los ensayos de ecotoxicidad también se utilizan con un enfoque retrospectivo de ERA para evaluar la contaminación histórica con posibles consecuencias ecológicas continuas. En términos generales, las pruebas de toxicidad han sido el principal instrumento para los requisitos legales y la toma de decisiones de gestión ambiental, lo que ha llevado al desarrollo de múltiples estándares y/o protocolos que dependen principalmente de los medios ambientales u organismos de prueba. (Sánchez-Hernández, 2006)

La ERA típica se ha enfocado a la evaluación de plaguicidas individuales (Barata *et al.*, 2006). Sin embargo, es conocido que el uso de mezcla de plaguicidas generalmente causa efectos tóxicos sinérgicos significativos tanto en las especies objetivo como en las especies no objetivo (Chen *et al.*, 2014). Los experimentos con un solo plaguicida no reflejan las situaciones de campo en las que se usan insecticidas múltiples o mezclas de insecticidas (Zhou *et al.*, 2011).



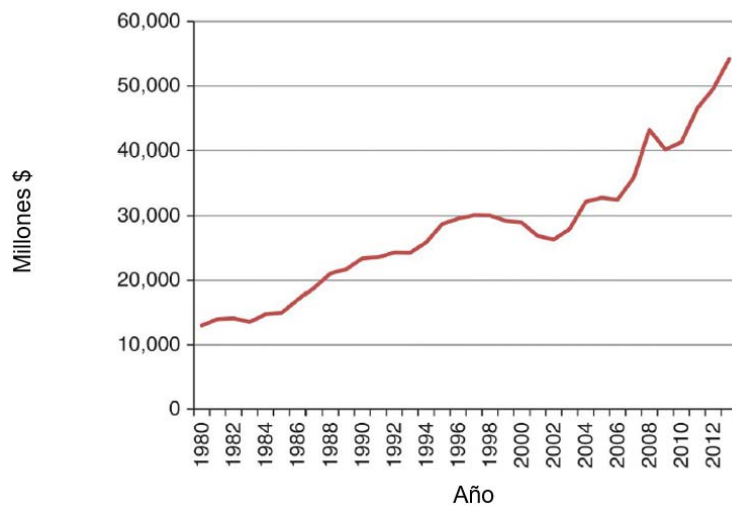
El presente estudio, tiene como objetivos, determinar el efecto tóxico del metamidofos, alfa-cipermetrina y su mezcla en *E. Andrei* para determinar el riesgo ambiental de la exposición individual y mixta. Además, se determinó el efecto tóxico de un suelo agrícola sobre *E. andrei*. Para lograr estos objetivos, se desarrollaron pruebas de toxicidad aguda (OECD, 1984) en lombrices de tierra de la especie *E. Andrei* y se determinaron los parámetros toxicológicos ( $DL_{50}$ ,  $DE_{50}$ , NOEC y LOEC); con la finalidad de proporcionar información de los efectos secundarios del uso de plaguicidas en el ecosistema terrestre.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 ANTECEDENTES

#### 2.1.1 USO DE PLAGUICIDAS A NIVEL MUNDIAL

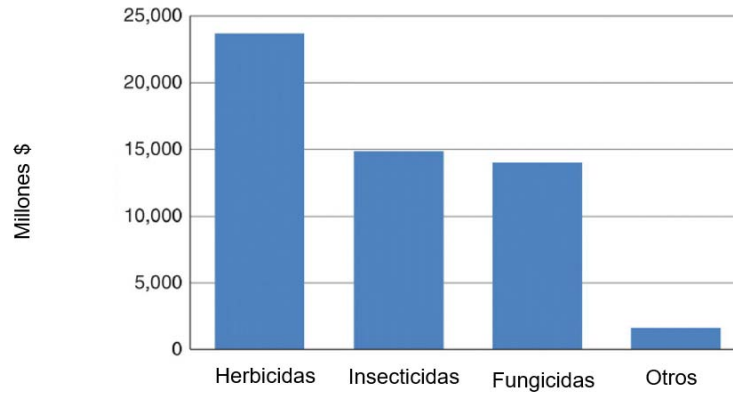
El mercado global de pesticidas ha ido creciendo, a pesar del retiro de muchos pesticidas antiguos y tóxicos, especialmente en Europa (Matthews, 2016). Las ventas globales totales de pesticidas crecieron en un 9,8% entre el año 2007 (\$ 26,7 millones) y 2013 (\$ 54 millones). (Figura 1)



**Figura 1: Mercado mundial de plaguicidas 1983-2013**

FUENTE: Matthews (2016)

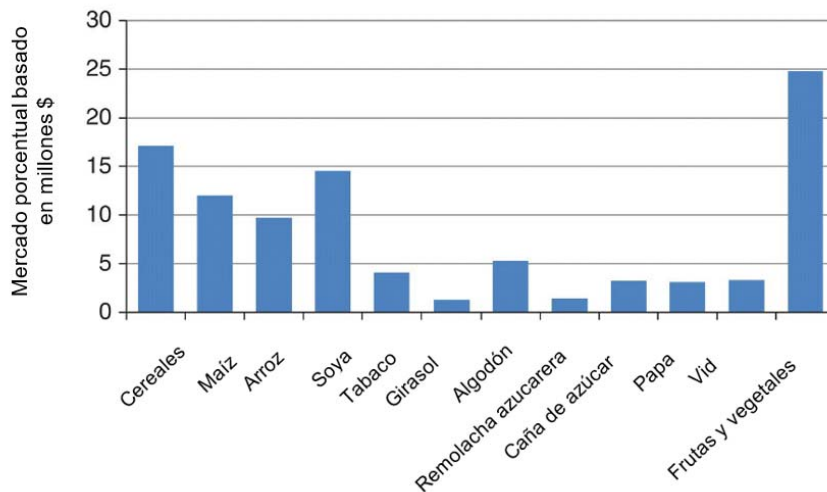
En la Figura 2, se muestra mercado global de pesticidas por tipo en el año 2013, observándose con mayor cantidad de venta a los herbicidas.



**Figura 2: Mercado mundial de pesticidas por tipo en el año 2013**

FUENTE: Matthews (2016)

Tal como se observa en la Figura 3, la mayor aplicación de plaguicidas se da en los cultivos de frutas y vegetales seguido de los cereales. El cultivo de girasol, representa el menor porcentaje de las ventas de plaguicidas.



**Figura 3: Ventas mundiales de pesticidas por cultivos principales**

FUENTE: Matthews (2016)

## 2.1.2 USO DE PLAGUICIDAS Y SU IMPACTO EN EL PERÚ

En el Perú se han documentado las malas prácticas del uso de plaguicidas para el control de plagas asociadas a la comercialización, dosis y frecuencia de aplicación, y uso de indumentaria adecuada para los aplicadores.

Gomero y Lizárraga (1998) indicaron en un estudio del uso de plaguicidas en la sierra peruana relacionadas al cultivo de papa, que el mayor impacto del uso de plaguicidas se debe al incremento de las dosis y frecuencia de la aplicación de los mismos generando una mayor resistencia de las plagas. En el año 1986 se recomendó en Huasahuasi, 25 kg·ha<sup>-1</sup> de aldicarb comercial más 4,5 litros de insecticidas; diez años después, técnicamente se recomienda 36 kg·ha<sup>-1</sup> de aldicarb comercial y 5 litros de insecticidas. Sin embargo, los agricultores usan mucho más de lo recomendado técnicamente.

Montoro *et al.* (2009) realizaron encuestas a agricultores en la sierra central del Perú en las provincias de Chupaca y Concepción durante el año 2005, donde registró que los agricultores no cuentan con ropa de protección y manipulan directamente los plaguicidas durante su preparación y aplicación; asimismo, muchas veces no toman medidas preventivas a pesar de conocer los riesgos relacionados. El comercio de los plaguicidas se ubica en los centros urbanos, cerca de restaurantes y tiendas de abarrotes, además, los plaguicidas más vendidos pertenecen a las categorías extremadamente y altamente peligrosos, tales como Tamaron® y Furadan®, esto representa un peligro para la salud de los agricultores. Los casos de intoxicación por estos productos en las provincias bajo estudio, se han incrementado entre los años 2001 a 2004.

Un estudio realizado a los agricultores del valle de Chancay-Huaral, reportaron que los plaguicidas más usados fueron metamidofos, dimetoato y cipermetrina. Además, de un total de 119 agricultores entrevistados, se observó que el 44,9% usaban plaguicidas de uso restringido y el 5,1% utilizaba de uso prohibido. Asimismo, se reportaron malas prácticas con respecto a la indumentaria adecuada de las personas que realizan la aplicación de los plaguicidas (Yengle *et al.*, 2005).

Devine *et al.* (2008) indicaron que, en el valle de Cañete, reconocido por el cultivo de algodón, desde la década de 1930 la principal plaga era el gusano del tabaco (*Heliothis*

*virescens*) y fue combatida con insecticidas de arsénico, DDT, lindano y toxafeno. De esta manera se desarrolló la resistencia a dichos pesticidas y surgieron otras plagas debido a que los depredadores y parasitoides no resistentes fueron eliminados del sistema. A mediados de 1950, se estaba realizando 16 aplicaciones de pesticidas por año. En 1956 se introdujo un Programa Integrado de Manejo de Plagas, volviendo sostenible nuevamente el cultivo de algodón. En la actualidad, este valle produce muchos otros tipos de cultivos además del algodón, en un ambiente con mucho menos regulaciones y los agricultores están experimentando ahora problemas análogos (causados por el uso excesivo de organofosforados y carbamatos de amplio espectro).

En un estudio del uso de pesticidas en el valle Santa Catalina en La Libertad, se encontró que los organofosforados (60%) y los carbamatos (30%) constituyen los pesticidas mayormente utilizados, siendo los organofosforados de mayor accesibilidad a los agricultores dado su bajo precio y alta eficacia; asimismo se reportó que la disposición final de los residuos no era adecuada porque en la mayoría de casos son tirados a la basura (Guerrero-Padilla y Chico-Ruiz, 2011).

De acuerdo al Decreto Supremo (D.S.) N°004-2011-AG, que aprueba el Reglamento de Inocuidad Agroalimentaria, el SENASA establece el Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes en alimentos agropecuarios primarios destinados al consumo humano y piensos. El informe del monitoreo adicional de contaminantes en alimentos agropecuarios primarios y piensos realizado el año 2015, registró que, de las 340 muestras de alimentos de origen vegetal analizadas, 129 muestras fueron no conformes (37,94%); dentro de las cuales se reportaron 71 muestras (20,88%) con presencia de residuos de plaguicidas que superan o no tienen Límite Máximo de Residuos (LMR) establecidos por el Codex Alimentarius. La región de San Martín registró el más alto porcentaje de muestras no conformes con 65,75%, seguido por Piura, Arequipa, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín y La Libertad con 54,29%, 40,00%, 31,67%, 30,14%, 20,00%, 20,00% y 13,79%, respectivamente.

### **2.1.3 EXPERIENCIAS INTERNACIONALES DE BUENAS PRÁCTICAS**

Experiencias internacionales con respecto al uso racional de plaguicidas, tal como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1: Experiencias internacionales en la formulación e implementación de políticas para racionalizar el uso de los plaguicidas**

<b>País</b>	<b>Políticas</b>
Holanda Plan de Protección de Cultivos	<p>Programa de simulación por computadoras con indicadores ambientales.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nivel de lixiviación en el suelo.</li> <li>• Efectos en organismos acuáticos.</li> <li>• Efectos en organismos del suelo. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Sellos orgánicos.</li> <li>- "EKO".</li> </ul> </li> <li>• Cuidado del ambiente.</li> <li>• Fortalecimiento del Servicio de Extensión.</li> <li>• Acuerdos para restringir plaguicidas altamente tóxicos, si no hay alternativas viables. <ul style="list-style-type: none"> <li>- Incentivos económicos: No aplicación de impuestos cuando se cumplen las metas.</li> <li>- Reducción de un 35% de ingredientes activos en el año 1995.</li> </ul> </li> </ul>
Suecia Reducción de riesgos por plaguicidas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Revisión del registro según riesgo-beneficio (bioacumulación, persistencia y movilidad). Entre 1986 y 1990 salieron del mercado el 50% de los productos.</li> <li>• Evaluación de 2 ó 3 concentraciones por debajo de lo recomendado para medir efectividad.</li> <li>• Centro de protección de cultivos para suministrar información sobre pronósticos de poblaciones de plagas: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Red demostrativa para los trabajadores agrícola de cereales.</li> <li>- Programa de apoyo a agricultores sobre planes de conversión hacia la agricultura orgánica.</li> </ul> </li> </ul>
Dinamarca Reducción de las aplicaciones de plaguicidas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Revisión del registro. Se eliminan los productos que tienen sustitutos alternos más seguros y efectivos.</li> <li>• Las etiquetas contienen recomendaciones elaboradas por el gobierno (Instituto Danés para las Ciencias de las Plantas y los Suelos).</li> <li>• Programa computarizado para la protección de cultivos:</li> <li>• Reducción del 30 % al 40 % de plaguicidas en los principales cultivos sin que se presenten pérdidas económicas.</li> <li>• Reducción del 25 % y 34 % de ingredientes activos en 1990 y 1992, respectivamente.</li> <li>• En 1994 se establecen nuevos requerimientos para equipos de aplicación; subsidios para la agricultura limpia; impuestos para los plaguicidas altamente contaminantes; aplicación de plaguicidas bajo prescripción y prohibición de las aplicaciones calendarías.</li> </ul>

FUENTE: Chapagain (2011).

«continuación»

<b>País</b>	<b>Políticas</b>
Reino unido Minimizar el uso de plaguicidas y sus riesgos asociados	<ul style="list-style-type: none"><li>• Certificado reconocido de competencia para las personas que aplican plaguicidas.</li><li>• Cursos de entrenamiento sobre equipos y manejo seguro de productos y residuos.</li><li>• Estatuto de niveles máximos de residuos.</li><li>• Revisión del registro (riesgos a la salud, seguridad ambiental y estándares para residuos).</li><li>• Programa de investigación en plagas y plaguicidas: biología de las plagas, mejores predicciones de las infestaciones de plagas, tecnologías de aplicación más efectiva, estrategias de control no químico, y la incorporación de la resistencia de plagas y enfermedades dentro de la cultura de los cultivos.</li><li>• Entre 1982 y 1990 reducción del 40% en las cantidades totales (toneladas) de ingredientes activos de herbicidas aplicados y un 34% en la cantidad aplicada por hectárea.</li></ul>

FUENTE: Chapagain (2011).

## **2.1.4 LEGISLACIÓN**

### **a. NACIONAL**

#### ***Ley orgánica del ministerio de agricultura (Ley 25902)***

Esta ley fue aprobada el 29 de noviembre de 1992 y crea el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). En su artículo 17 la designa como el ente encargado de desarrollar y promover la participación privada para la ejecución de planes y programas de prevención, control y erradicación de plagas y enfermedades que inciden con mayor significación socioeconómica en la actividad agraria, siendo a su vez, el responsable de cautelar la seguridad sanitaria del agro nacional.

#### ***Ley General de Sanidad Agraria (Decreto Legislativo N° 1059)***

Esta ley aprobada el 28 de junio del 2008, tiene entre sus objetivos regular la producción, comercialización, uso y disposición final de insumos agrarios, a fin de fomentar la competitividad de la agricultura nacional y promover el manejo integrado de plagas para aseguramiento de la producción agropecuaria nacional, según estándares de competitividad y según lo dispuesto en las políticas del estado.

#### ***Aprueban Norma Sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de plaguicidas de uso agrícola en alimentos de consumo humano (Resolución Ministerial N° 1006-2016/MINSA)***

Uno de los objetivos de esta norma es establecer el patrón de referencia para el control sanitario que realiza la autoridad competente en la vigilancia o monitoreo de peligros químicos en los alimentos.

#### ***Decreto Supremo que aprueba el Reglamento del Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola (Decreto Supremo N° 001-2015-MINAGRI)***

El presente Reglamento tiene por objeto crear el Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola con la finalidad de prevenir y proteger la salud humana y el ambiente, garantizar la eficacia biológica de los productos, así como orientar su uso y manejo adecuado



mediante la adopción de buenas prácticas agrícolas en todas las actividades del ciclo de vida de los plaguicidas.

***Reglamento de inocuidad alimentaria (Decreto Supremo N° 004-2011-AG)***

El presente Reglamento tiene por objeto establecer disposiciones para garantizar la inocuidad de los alimentos agropecuarios primarios, así como de los piensos, con el propósito de proteger la vida y la salud de las personas, reconociendo y asegurando los derechos e intereses de los consumidores y promoviendo la competitividad de la agricultura nacional.

***Aprueban el Reglamento para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola (D.S. N° 016-2000-AG)***

El objetivo general del presente reglamento es establecer requisitos y procedimientos actualizados para el registro y control de plaguicidas agrícolas, orientar el uso y manejo correcto de estos insumos en la agricultura para prevenir daños a la salud y al ambiente en las condiciones autorizadas y, facilitar su comercio interno y externo. Este reglamento en su Anexo 12, detalla las etapas de Evaluación de Riesgo Ambiental.

***Evaluación de riesgos ambientales: Plaguicidas en la actividad agrícola (MINSA, 2001)***

Este informe pertenece a la Serie de Informes Técnicos de Vigilancia Epidemiológica de Riesgos y Daños N° 028 del Ministerio de Salud del Perú (MINSA), establece el método de evaluación de riesgos para la gestión de plaguicidas.

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), órgano responsable de la vigilancia y control de los productos agrícolas, desde su importación hasta su uso en campo, a través de la Subdirección de Insumos Agrícolas participa en reuniones sobre temas relacionados a plaguicidas como son:

- Convenio de Basilea (sobre movimiento trans – fronterizo de sustancias tóxicas)
- Convenio de Estocolmo (sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes – COP's)

- Convenio de Rotterdam (sobre el procedimiento de consentimiento fundamentado previo aplicable a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos objeto de comercio internacional)
- Protocolo de Montreal (sobre las sustancias agotadoras de la capa de ozono) y Codex Alimentarius (relativo a inocuidad y calidad de los alimentos).

Es importante indicar que el SENASA se constituye enfocada en los Convenios de Estocolmo y Rotterdam, conjuntamente con la Dirección General de Salud (DIGESA) y el Ministerio de Salud (MINSA). Además, establece los plaguicidas agrícolas restringidos y prohibidos en el Perú (Tabla 2).

**Tabla 2: Plaguicidas agrícolas prohibidos y restringidos en el Perú**

<b>Plaguicidas agrícolas restringidos</b>
Paraquat (Agregando sustancia emética, color, olor)
Metamidofos (Uso de disolventes etilenglicol y/o dietilenglicol, envases de COEX o olietileno de alta densidad e inclusión de un folleto de uso y manejo seguro)
<b>Plaguicidas agrícolas prohibidos</b>
Aldicarb, aldrin, arseniato de plomo, endrin, dieldrin, BCH/HCH, canflecoro/toxafeno, 2, 4,5-T, DDT, parathion etílico, parathion metílico, monocrotofos, binapacril, dinoseb, endosulfan, fluoroacetamida, heptacloro, dicloruro de etileno, captafol, clorobencilato, hexaclorobenceno, pentaclorofenol, clordano, dibromuro de etileno, clordimeform, compuestos de mercurio, fosfamidon, lindano, mirex, sales de dinoseb, DNOC (dinitro orto cresol) y óxido de etileno.
FUENTE: SENASA (2018).

## **b. INTERNACIONAL**

En la esfera internacional, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) publicó un Código de conducta sobre la distribución y el uso de plaguicidas, que ha sido modificado posteriormente y ahora es el Código de conducta de la FAO para la gestión de plaguicidas (FAO, 2012). Incluye requisitos para el Consentimiento Fundamentado Previo (PIC) con el objetivo de ayudar a los países menos

desarrollados sin los recursos para administrar un sistema de registro completo para decidir si debe permitir la importación de ciertos plaguicidas.

El Convenio de Rotterdam establece que los exportadores de plaguicidas deben informar a los importadores de países en desarrollo sobre la toxicidad y los peligros asociados con el uso de los productos incluidos en la lista de PIC y que reciban su autorización antes de exportar los productos.

El Código de la FAO es voluntario, pero los requisitos para el PIC se han incluido en una normativa de la Comunidad Europea aplicable por ley en los estados miembros. Se mantiene una base de datos PIC en el Registro Internacional de Sustancias Químicas Potencialmente Tóxicas, celebrado en Ginebra, donde se encuentra el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS). En virtud del Convenio de Estocolmo, varios plaguicidas se incluyen en la lista de contaminantes orgánicos persistentes (COP) y su uso está ahora prohibido, aunque existe una excepción para el DDT que se utiliza únicamente para la pulverización de residuos en interiores para controlar los mosquitos.

La Comisión de las Naciones Unidas del Codex Alimentarius es responsable de la armonización de normas relacionadas con el comercio internacional de alimentos y, en colaboración con las reuniones conjuntas de un Grupo de trabajo de la FAO y un Comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Comité del Codex sobre residuos de plaguicidas establece estándares. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) también tiene un rol en el establecimiento de especificaciones para cada pesticida.

En la Unión Europea (UE), la Directiva 91/414/CEE inició la armonización de las adquisiciones de registro, y ha seguido la nueva Directiva sobre Uso Sostenible (SUD) en forma de Reglamento (Reglamento CE 1107/2009), que entró en vigor en junio de 2011, y requiere el cumplimiento de todos los países de la UE. El objetivo ha sido minimizar los riesgos de contaminación ambiental a partir de los datos obtenidos de los fabricantes y excluir los compuestos más peligrosos. Además del registro de los plaguicidas, la reglamentación también establece requisitos para el envasado de plaguicidas con más énfasis en el reciclaje de envases de plaguicidas limpios para aumentar la seguridad. La cantidad de pesticidas que comercializan en Europa ya se ha reducido significativamente

como resultado de esta legislación y también ha afectado a los países que exportan cultivos a Europa, ya que también deben cumplir con las reglamentaciones sobre niveles máximos de residuos (LMR).

Las normativas internacionales sobre el uso de plaguicidas, son importantes, ya que, en otras partes del mundo, especialmente en áreas donde la ropa de protección no está disponible o se considera demasiado incómoda para usar, pueden seguir los lineamientos internacionales para retirar pesticidas altamente tóxicos (Matthews, 2016).

### 2.1.5 ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS CON PLAGUICIDAS

Se han realizado diferentes estudios de toxicología de plaguicidas en lombrices de tierra, tanto en el Perú como a nivel internacional. Una lista de estudios relevantes de efecto tóxico de metamidofos y alfa-cipermetrina en lombrices de tierras se presentan en la Tabla 3 y Tabla 4.

**Tabla 3: Estudios toxicológicos de metamidofos en lombrices de tierra**

<b>DL<sub>50</sub> (mg·kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Especie</b>	<b>Fuente</b>
2,5	<i>E. foetida</i>	Iannacone <i>et al.</i> (2008)
17,3	<i>E. andrei</i>	Haque <i>et al.</i> (1984)
85,34	<i>E. foetida</i>	Espinoza-Navarro, Ferreira y Bustos-Obregón (2013)
52,3	<i>E. foetida</i>	Liang y Zhou (2003)

**Tabla 4: Estudios toxicológicos de alfa-cipermetrina en lombrices de tierra**

<b>DL<sub>50</sub> (mg·kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Especie</b>	<b>Fuente</b>
>100	<i>E. foetida</i>	Inglesfield (1984)
762	<i>E. foetida</i>	Hartnik <i>et al.</i> (2008)
341,1	<i>E. foetida</i>	Arrázola (2016)

Además, se muestran los diferentes resultados de dosis letal media (DL<sub>50</sub>) reportados para algunos tipos de plaguicidas evaluados: organofosforados y piretroides. (Tabla 5)

**Tabla 5: Pruebas con suelo artificial en *Eisenia fetida* de los tipos plaguicidas evaluados**

<b>Insecticidas</b>	<b>DL<sub>50,14d</sub> (mg·kg<sup>-1</sup>)</b>
<b>Organofosforados</b>	
Clorpirifos	384,9
Phoxim	901,5
Pyridaphenthion	243,7
Triazofos	347,5
<b>Piretroides</b>	
Cyhalothrina	1 369
Cipermetrina	1 272
Fenpropathrin	1 246
Lambda-cyhaltrina	1 370

FUENTE: Wang *et al.* (2012)

DL<sub>50,14d</sub> = dosis letal media a 14 días de exposición

El uso de mezcla de plaguicidas generalmente causa efectos tóxicos sinérgicos significativos tanto en las especies objetivo como en las especies no objetivo (Chen *et al.*, 2015). En la Tabla 6 se muestra los efectos de mezcla de pesticida en las lombrices de tierra reportados en la literatura.

**Tabla 6: Efectos de mezcla pesticidas en las lombrices de tierra**

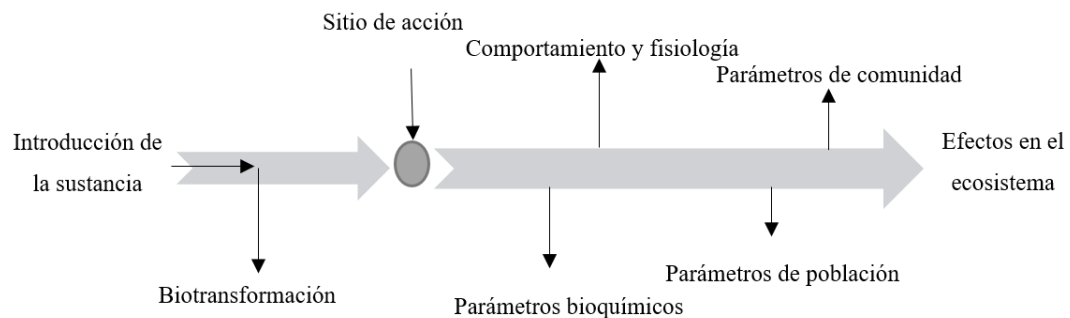
<b>Pesticida</b>	<b>Especie</b>	<b>Respuesta</b>	<b>Fuente</b>
Chlorpirifos, atrazine, cyanazine	<i>Eisenia foetida</i>	Las mezclas binarias de clorpirifos con atrazina y cianazina demostraron una toxicidad mayor a la individual.	Lydy y Linck (2003)
Atrazina y clorotoluron	<i>Eisenia foetida</i>	La atrazina era más tóxica para la lombriz que el clorotolurón. Combinación mostró efecto sinérgico.	Xu <i>et al.</i> (2006)
Carbendazim, dimetoato, y glifosato	<i>Eisenia foetida</i>	Independientemente y en combinación es perjudicial para el crecimiento y la reproducción.	Yasmin and D'Souza (2007)
Metamidofos y acetoclor	<i>Eisenia foetida</i>	Efecto tóxico sinérgico	Zhou <i>et al.</i> (2006)
Cipermetrina y clorpirifos	<i>Eisenia foetida</i>	Disminución del crecimiento y la reproducción. Combinación mostró efecto sinérgico.	Zhou <i>et al.</i> (2011)
Mezcla de Ni y clorpirifos	<i>Lumbricus rubellus</i>	Las combinaciones de Ni y clorpirifos causan toxicidad aditiva para las lombrices. Gusanos acumulan Ni y clorpirifos en sus tejidos.	Lister <i>et al.</i> (2011)
Cipermetrina e imidaloпрid	<i>Eisenia foetida</i>	La combinación mostró un efecto antagónico.	Arrázola (2016)

## 2.2 ASPECTOS GENERALES

### 2.2.1 TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

La toxicología ambiental es la ciencia que estudia los efectos adversos de los productos químicos y otros agentes creados por el hombre, sobre la estructura y función de los sistemas ecológicos del medio ambiente, siendo el ecosistema y los humanos los principales receptores específicos (Wayne y Yu, 2003). Asimismo, incluye el estudio de sustancias químicas, que pueden ser potenciales contaminantes, que afectan a los diferentes compartimentos ambientales (aire, agua y suelo), así como a los alimentos (residuos de plaguicidas). Los resultados son importantes para la toma de decisiones y la gestión ambiental (Gruiz *et al.*, 2015).

Existen tres funciones básicas de toxicología ambiental después de la introducción de una sustancia en el medio ambiente. El primero describe el destino y la distribución del material en la biosfera y el organismo después de la liberación inicial al medio ambiente. La segunda función describe la interacción del material con el sitio de acción. La tercera función describe el impacto de esta interacción molecular sobre la función de un ecosistema (Wayne y Yu, 2003). (Figura 4)



**Figura 4: Funciones del ingreso de una sustancia al medio ambiente - Toxicología ambiental**

FUENTE: Adaptado de Wayne y Yu, 2003

La toxicología ambiental es el principal pilar de la política ambiental y regula la producción, el transporte y el uso de cualquier sustancia química peligrosa en todo el mundo, ya sean sustancias industriales, agrícolas o farmacéuticas, pesticidas, cosméticos o aditivos alimentarios. Sin embargo, los efectos adversos son numerosos y complejos y no todos están cubiertos por las regulaciones actuales. (Gruiz *et al.*, 2015).

### **2.2.2 BIOMARCADORES**

Los biomarcadores se identificaron originalmente en el campo de la medicina humana y fueron los primeros promovidos para su uso en la toxicología ambiental a principios de la década de 1990. La definición más simple y más utilizada de un biomarcador es la ideada por David Peakall: «una respuesta biológica a los productos químicos que dan una medida de la exposición y, a veces, también del efecto tóxico». (Rojas-García *et al.*, 2011)

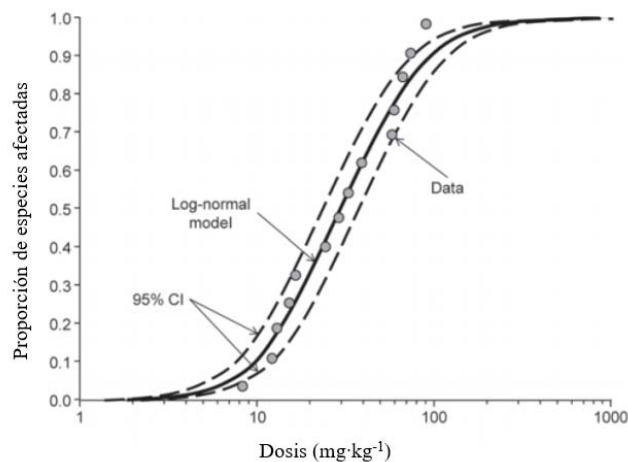
Los biomarcadores generalmente se dividen en tres categorías como marcadores de exposición, efecto y susceptibilidad (Rojas-García *et al.*, 2011).

- Biomarcadores de exposición: son medidas de sustancias internas en un sistema biológico, reflejando diversas manifestaciones de las dosis internas que resultan de la exposición.
- Biomarcadores de efecto: son cualquier cambio en un sistema biológico que refleja el deterioro cualitativo o cuantitativo resultante de la exposición. Si bien se hace una distinción entre biomarcadores de exposición y biomarcadores de efecto, en la práctica las dos áreas se superponen.
- Biomarcadores de susceptibilidad: son indicadores que miden los cambios a nivel individual o de población que puedan influir en la respuesta a los agentes ambientales. Estos indicadores pueden incluir características tales como una capacidad metabólica mejorada para convertir un químico en sus metabolitos reactivos, más tóxicos, o cambios en el número de sitios receptores que son críticos para una respuesta específica.



### 2.2.3 CURVA DOSIS-RESPUESTA Y PUNTOS FINALES

Una relación dosis-respuesta existe cuando una relación matemática consistente describe la proporción de organismos de prueba responde a una dosis específica para un periodo de exposición dado. Aunque una relación dosis-respuesta puede parecer fácil de establecer, es necesario tener en cuenta una serie de suposiciones. La primera suposición es que la respuesta observada es causada por la sustancia administrada, debe establecerse una relación causal entre la dosis administrada y la respuesta observada. En segundo lugar, se supone que la magnitud de la respuesta está directamente relacionada con la magnitud de la dosis y, en tercer lugar, la relación dosis-respuesta establece que es posible correctamente observar y medir una respuesta. (Hughes, 1996) (Figura 5).



**Figura 5: Curva dosis-respuesta**

FUENTE: Hughes (1996)

A continuación, se presentan los parámetros toxicológicos típicos que se pueden obtener, a través de la elaboración de la curva dosis-respuesta (Figura 5):

- $CE_{50}$ : las concentraciones que tienen el efecto de una disminución del 50% en los puntos finales medidos: inhibición de la luminiscencia en el ejemplo, pero puede ser tasa de respiración, actividad enzimática, etc. en otros casos. La abreviatura CE se encuentra para una concentración efectiva.

- $DE_{50}$ : las dosis que tienen el efecto de una disminución del 50% en el valor del punto final medido. La abreviatura DE significa dosis efectiva. La diferencia con la CE es que la cantidad del material efectivo se da como una dosis.
- $CL_{50}$ : las concentraciones que causan mortalidad de 50% en la prueba organismos - estimados por medios gráficos o computacionales. La diferencia del  $CE_{50}$  presentados anteriormente es que el punto final medido es fijo (letal) y CL significa concentración letal.
- $DL_{50}$ : las dosis que causan una mortalidad del 50% en organismos de prueba estimado por medios gráficos o computacionales, DL significa dosis letal.
- NOEC: concentración o nivel sin efectos observados. Esta es la concentración o dosis aplicada más alta en la prueba, que no mostró ningún efecto cuando se probó, en comparación con el control no tratado.
- NOAEL: concentración o nivel sin efectos adversos observados, la concentración o dosis más alta aplicada en la prueba que no mostró un efecto adverso.
- LOEC: concentración o nivel de efectos observados más bajos, la concentración más baja aplicada que ha causado un efecto.

Un punto final es una característica de un componente ecológico que puede verse afectado por la exposición a un agente estresante, clasificándose en dos tipos: puntos finales de evaluación (expresiones del valor ambiental real que se debe proteger) y puntos finales de medición (respuestas medibles a un factor estresante que están relacionadas con las características valorada elegidas como puntos finales) (Suter, 1990 citado por Wayne y Yu, 2003).

Los puntos finales en ecotoxicología de lombrices de tierra establecidos en los lineamientos son tasas de mortalidad y reproducción. Sin embargo, no solo hay influencia directa de los contaminantes sobre los parámetros de población, si no también hay cambios en el comportamiento como evitación de sustrato que pueden tener un impacto importante sobre los ecosistemas del suelo (Schaefer, 2003).

## **2.2.4 TOXICOLOGÍA TERRESTRE**

La toxicidad terrestre es el estudio de la condición ambiental adversa para los microbios y/o organismos que habitan en el suelo, así como de plantas, fauna terrestre y por supuesto humanos, utilizando servicios ecosistémicos terrestres (Gruiz *et al.*, 2015). El suelo juega un papel en los ciclos de vida del agua, los elementos químicos y la materia orgánica, incluidos los contaminantes.

La evaluación de los riesgos ecotoxicológicos de los plaguicidas en los ecosistemas terrestres en particular se ha convertido en una de las áreas más importantes en la evaluación científica de plaguicidas para la consideración de la preservación de la biodiversidad. (Utsumi, Miyamoto y Katagi, 2011)

El ecosistema del suelo es muy complejo en sus interacciones físicas, químicas y biológicas. Sin embargo, en pruebas de laboratorio, estas interacciones entre organismos y el medio ambiente no se puede tener en cuenta (García, 2011). Por ende, se sugirieron que los químicos en el suelo deberían ser probados usando una estrategia de prueba escalonada que aumentan la relevancia y su complejidad ecológica: (1) pruebas de laboratorio básicas (principalmente agudo); (2) pruebas de laboratorio extendidas (principalmente crónicas); (3) pruebas usando microcosmos (pruebas modelo de ecosistemas) o incluso pruebas de campo (Römbke *et al.*, 1996 citado por García, 2011).

## **2.2.5 LOMBRICES DE TIERRA**

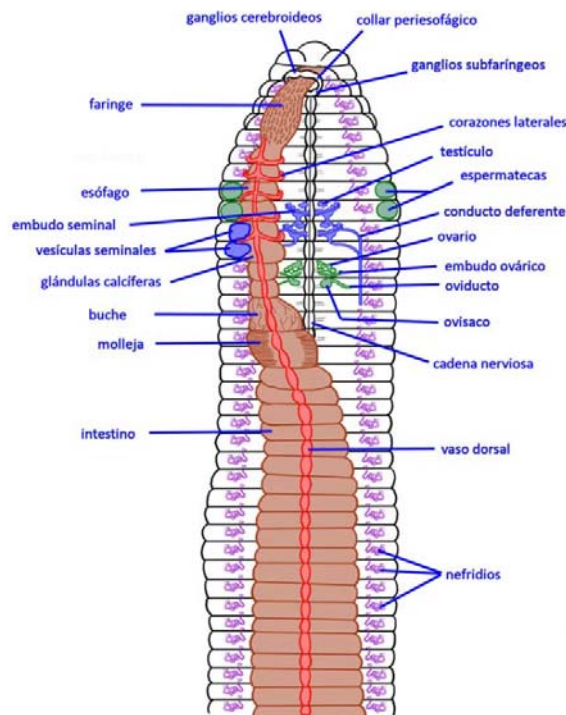
Las lombrices de tierra son invertebrados, animales de sangre fría que colectivamente pertenecen al phylum Annelida, clase Oligochaeta, y orden Megadrili. Las lombrices de tierra han sido una de las especies más comunes utilizadas para probar productos químicos con potencial impacto peligroso en el medio ambiente (Gad, 2013).

Están altamente especializadas para la vida en el suelo. La barrera más externa del cuerpo es una cutícula quitinosa delgada, debajo de la cual se encuentra una capa epidérmica que contiene las glándulas secretoras mucosas y las células receptoras de los nervios. Algunos de estos son los receptores de luz que hacen que las lombrices sean fotofóbicas (Gad, 2013).

La locomoción se ve afectada por las contracciones de las dos capas de células musculares que se encuentran debajo de la epidermis, una capa circular y una capa longitudinal. Las capas musculares circulares son responsables de la apariencia segmentada de las lombrices. El sistema nervioso central consta de dos ganglios por segmento interconectados por un doble cordón nervioso. El sistema circulatorio es un sistema de ciclo cerrado con cinco corazones y dos vasos primarios. La respiración es por difusión pasiva a través de las paredes del cuerpo (Zaballos y Moreno, 2009).

Las lombrices tienen un celoma, cavidad llena de líquido situada entre la pared del cuerpo y el tracto digestivo, permitiendo que se arrastre en una dirección mientras que la comida pasa a través del tracto digestivo en la otra dirección. A pesar de ser hermafroditas, las lombrices no se autofertilizan. Se aparean con dos intercambios de espermatozoides y ambos socios desarrollan los capullos (Zaballos y Moreno, 2009).

En la Figura 6 se presenta la morfología interna general.



**Figura 6: Morfología interna general de la lombriz de tierra *Eisenia sp.***

FUENTE: (Zaballos y Moreno, 2009).

Las lombrices son organismos importantes para el componente suelo, así como de gran utilidad para el hombre; siendo las siguientes actividades, más relevantes que desarrollan (Stanley y Preetha, 2016):

- Mejoran las propiedades físicas del suelo incluyendo su estructura.
- Mejora la fertilidad del suelo y la disponibilidad de nutrientes.
- Mejoran la vida microbiana del suelo.
- Manejo de residuos orgánicos y vermicompostaje.
- Biorremediación de ambientes contaminados.
- Fuente importante de alimentos.
- Uso en restauración de residuos.
- Mejora la producción de pasto, el crecimiento y rendimiento de los cultivos.

Las lombrices de tierra son de diferentes tipos y se pueden clasificar principalmente en tres grupos ecológicos basados en sus hábitos de madriguera y alimentación como epígeo, endógeno y anécico (Tabla 7) (Stanley y Preetha, 2016, Roubalová *et al.*, 2015 y Hawkins *et al.*, 2008).

**Tabla 7: Tipos de lombrices de tierra**

<b>Tipos de lombrices</b>	<b>Descripción</b>
Epigénicas	Las lombrices epigeas viven sobre el suelo mineral, rara vez forman madrigueras y se alimentan preferentemente de la hojarasca (Roubalová <i>et al.</i> , 2015).
Endógeno	Las especies endógenas construyen sus madrigueras predominante horizontales (Roubalová <i>et al.</i> , 2015), entre los 10-15 cm superiores del suelo (Stanley y Preetha, 2016), consumen tierra mineral y prefieren suelos ricos en materia orgánica (Roubalová <i>et al.</i> , 2015).
Anécico	Las especies anécicas son más grandes en tamaño, forman madrigueras verticales, a veces ramificadas, que se extienden a la superficie del suelo y pueden tener una profundidad de hasta 240 cm. Estas especies a menudo emergen en la superficie para alimentarse de la hojarasca en descomposición, generalmente llevando el material a sus madrigueras. También ingieren parte del suelo junto con la materia orgánica (Hawkins <i>et al.</i> , 2008).

FUENTE: Elaboración propia

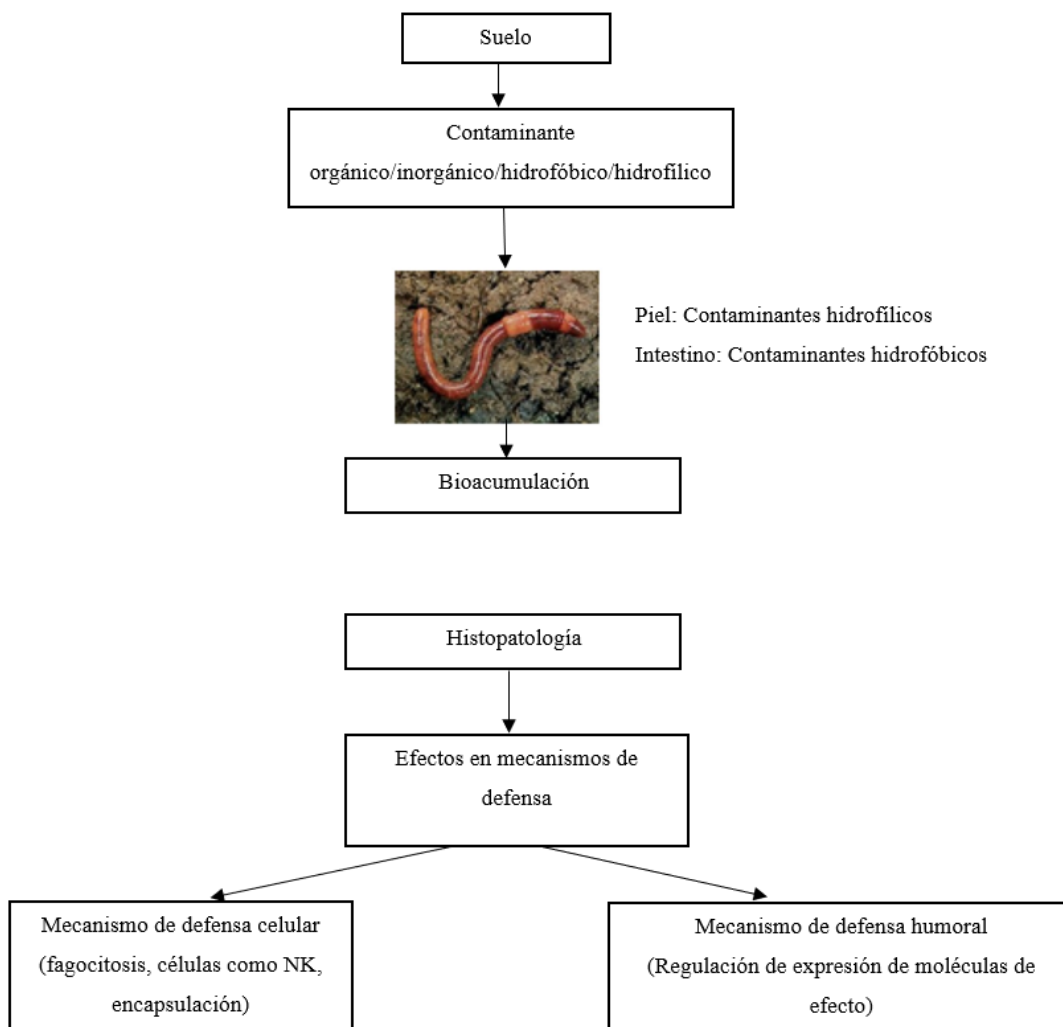
*E. foetida* (Savigny, 1826) y *E. andrei* (Bouché, 1972) son dos (02) especies epigénicas de lombrices estrechamente relacionadas y muy utilizadas para el tratamiento de residuos orgánicos mediante vermicompostaje, y también en estudios de ecotoxicología, fisiología y genética. Este uso tan extendido se debe a que son ubicuas con una distribución cosmopolita, con ciclos de vida cortos, un rango amplio de tolerancia a la temperatura y a la humedad y de fácil manejo (García, 2011; Alves, 2013). Según, Domínguez y Pérez-Losada (2010) ambas especies son diferentes *E. foetida* corresponde a una forma rayada y presenta en el área entre los segmentos sin pigmentación o de color amarillo o pálido; de ahí, su nombre común de lombriz rayada o lombriz tigre. En contraste, *E. andrei*, la lombriz roja común, tiene la forma de color rojo uniforme.

Roubalová *et al.* (2015) indicaron que dos especies epigénicas (*E. foetida* y *E. andrei*), se han utilizado durante muchos años para desarrollar pruebas de ecotoxicidad. Dentro de los cuales, hay dos conjuntos de directrices, lo establecido por la Organización para la

Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) y lo propuesto por la Organización Internacional de Normalización (ISO), para la evaluación del riesgo ecológico del suelo contaminado, a través de la determinación de la toxicidad aguda de los productos químicos en las lombrices de tierra (OECD, 1984; ISO, 1993), y los efectos en su reproducción (ISO, 1998; OECD, 2004).

La presencia de contaminantes en el suelo altera las principales funciones fisiológicas de las lombrices, como la supervivencia, la nutrición, la inmunidad, el crecimiento y la reproducción. y estos efectos dependen de la matriz, el tiempo de exposición y los tipos y dosis de los contaminantes en el medio ambiente. En la Figura 7 se presenta el efecto en las lombrices por la presencia de contaminantes en el suelo. Los contaminantes hidrofílicos entran al cuerpo de la lombriz predominantemente a través de la piel, mientras que las sustancias hidrófobas ingresan a través del tracto digestivo. Los contaminantes se acumulan en los tejidos de la lombriz de tierra, lo que puede ocasionar la rotura de tejidos y células, como la reducción progresiva de las vellosidades intestinales y el tejido clorofogénico (ch) en las lombrices mantenidas en suelos contaminados con dioxinas. Además, los mecanismos de defensa celular y humoral están deteriorados por los contaminantes del suelo (Roubalová *et al.*, 2015).

Stanley y Preetha (2016) indican que los pesticidas pueden afectar a las lombrices de tierra matándolas o causándoles impedimentos temporales o permanentes o alterando sus actividades y comportamiento. Asimismo, mencionan que «algunos productos químicos tienen toxicidad crónica, es decir tóxico después de una exposición prolongada puede evaluarse con el cálculo del tiempo letal mediano. Otro método para encontrar la toxicidad aguda es probando el efecto de dosis o concentraciones reales de campo en los gusanos en el laboratorio».



**Figura 7: Efecto de contaminantes en las lombrices de tierra**

FUENTE: Roubalová *et al.* (2015)

La elección de biomarcadores apropiados es crucial para controlar los efectos de la contaminación en los organismos. Las reacciones a la contaminación pueden monitorearse en varios niveles, el nivel corporal total (viabilidad, pérdida de peso, reducción de la reproducción y reacción de escape), el nivel de órgano y tejido (cambios histopatológicos), el nivel celular (disminución en las condiciones fisiológicas del células) y el nivel molecular (la regulación hacia arriba y hacia abajo de los niveles de expresión de genes que son sensibles a los cambios ambientales, el perfil del transcriptoma) (Roubalová *et al.*, 2015; Sánchez-Hernández *et al.*, 2014)



Es conocido, que existe distintas respuestas ante la exposición a sustancias químicas entre diferentes especies de lombriz, tal como se muestra en la Tabla 8. En la Tabla 9 se muestra la clasificación de toxicidad de la lombriz de tierra *E. foetida* en comparación a las escalas de toxicidad establecidas para la rata. Además, en la Tabla 10 se muestra los diferentes valores de toxicidad y clasificación en comparación de *E. foetida* y el ratón.

**Tabla 8: Toxicidad comparativa entre diferentes especies de lombriz de tierra**

Sustancia	CL <sub>50</sub> (µg·cm <sup>-2</sup> )	
	<i>Eisenia foetida</i>	<i>Lumbricus terrestris</i>
Carbofuran	0,30	0,31
Aldicarb	3,20	0,02
Carbaryl	9,00	0,28
Malathion	13,5	0,27
Parathion	14,8	1,21
Acephate	851	692

Fuente: Roberts y Dorough (1984) citado por Gad (2013).

CL<sub>50</sub>= concentración letal media

**Tabla 9: Calificación de la toxicidad de la lombriz de tierra**

Clasificación	Designación	DL <sub>50</sub> rata (mg·kg <sup>-1</sup> )	CL <sub>50</sub> <i>E. foetida</i> (µg·cm <sup>-2</sup> )
1	Supertóxico	<5	<1,0
2	Extremadamente tóxico	5–50	1,0–10,0
3	Muy tóxico	50–500	10–100
4	Moderadamente tóxico	500–5000	100–1000
5	Relativamente no tóxico	>5000	>1000

FUENTE: Neuhauser (1985) citado por Gad (2013)

DL<sub>50</sub> = dosis letal media, CL<sub>50</sub>= concentración letal media

**Tabla 10: Valores comparativos de toxicidad agua (mortalidad) entre la lombriz de tierra y el ratón**

Sustancia química	<i>E. foetida</i> (CL <sub>50</sub> µg·cm <sup>-2</sup> )	Ratón (DL <sub>50</sub> mg·kg <sup>-1</sup> )
2,4-Dinitrophenol	0,6 (1)	45 (2)
Carbaryl	14 (3)	438 (3)
Benzeno	75 (3)	4 700 (4)
1,1,1-Trichloroethane	83 (3)	11 240 (5)
Dimethyl phthalate	550 (4)	7 200 (5)

Fuente: Roberts y Dorough, 1984 citado por Gad, 2013

Valores en paréntesis indican clasificación de toxicidad, DL<sub>50</sub> = dosis letal media, CL<sub>50</sub>= concentración letal media

## 2.2.6 PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son sustancias biológicamente activas que se utilizan para prevenir, destruir o controlar plagas al interferir con sus procesos metabólicos (Rice *et al.* 2007 citado por Gao *et al.*, 2012) y en el mismo sentido, para Arias-Estévez *et al.*, 2008 es cualquier sustancia o mezcla de sustancias que previene, destruye, repele o mitiga cualquier plaga o hierba.

Los plaguicidas ayudan a controlar las plagas para una mejor productividad de cultivos agrícolas, sin embargo, pueden ser tóxicos para las especies no objetivo, que juegan un rol importante en el ecosistema terrestre (Pelosi *et al.*, 2014); así como, el uso extensivo de insecticidas causa una evolución de la adaptación o resistencia en las plagas objetivo y, por ende, provoca una disminución en la eficacia de estos productos químicos (Wang *et al.*, 2008). Los plaguicidas pueden alcanzar el suelo de forma directa, inmediatamente después de su aplicación, mediante el flujo y/o la deposición de la mezcla de pulverización aplicada a las partes superiores de las plantas. (Tenório *et al.*, 2016).

### a. CLASIFICACIÓN

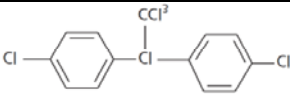
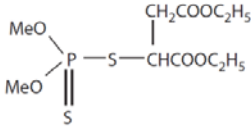
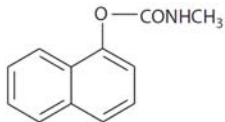
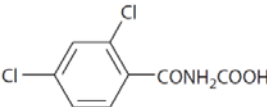
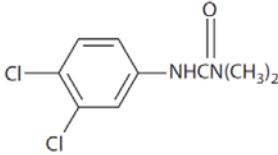
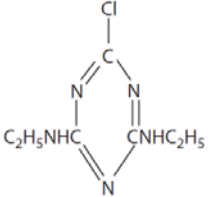
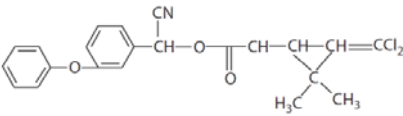
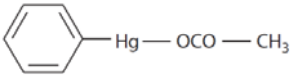
Los pesticidas se pueden clasificar de acuerdo con su objetivo, su modo o período de acción, como se muestra en la Tabla 11 y por grupo químico en la Tabla 12.

**Tabla 11: Clasificación de pesticidas**

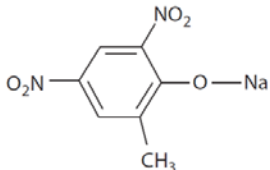
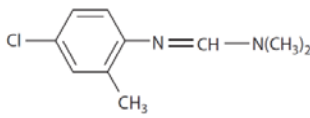
Por objetivo		Por modo o tiempo de acción		Por estructura química
Tipo	Objetivo	Tipo	Acción	
Bactericida (desinfectante)	Bacteria	Contacto	Muerte por contacto con plagas	Los pesticidas pueden ser productos químicos orgánicos o inorgánicos. La mayoría de los pesticidas actuales son orgánicos. Los pesticidas inorgánicos comúnmente usados incluyen fungicidas a base de cobre. El azufre de la cal se utiliza para controlar los hongos y los ácaros, el ácido bórico utilizado para el control de las cucarachas y los herbicidas de sulfato de amonio. Los insecticidas orgánicos pueden ser naturales (generalmente extraídos de plantas o bacterias) o sintético. La mayoría de los pesticidas que se usan hoy en día son químicos orgánicos sintéticos. Se pueden agrupar en familias químicas en función de su estructura.
Defoliante	Follaje de cultivos	Erradicante	Eficaz después de la infección por patógeno	
Desecante	Follaje de cultivos	Fumigantes	Entra en la plaga como un gas	
Fungicida	Hongos	No selectivo	Tóxico para el cultivo y la maleza	
Herbicida	Malas hierbas	Post-emergencia	Eficaz cuando se aplica después de la emergencia del cultivo o las malas hierbas	
Insecticida	Insectos	Pre-emergencia	Eficaz cuando se aplica después de la siembra y antes de la emergencia del cultivo o las malas hierbas	
Acaricida	Ácaros y garrapatas	Pre-plantación	Eficaz cuando se aplica antes de plantar	
Moluscicida	Babosa y caracol	Protectores	Eficaz cuando se aplica antes de que el patógeno infecte la planta	
Nematicida	Nematodos	Selectivo	Tóxico solo para hierba	
Regulador de crecimiento de plantas	de de Proceso de crecimiento del cultivo	Esterilizante del suelo	Tóxico para toda la vegetación	
Rodenticida	Roedores	Veneno estomacal	Elimina las plagas de los animales después de la ingestión	
Conservante de madera	de Organismos destructores de madera	Sistémico	Transportado a través de cultivos o plagas después de la absorción	

FUENTE: Adaptado de Arias-Estévez *et al.* (2008)

**Tabla 12: Clasificación química de pesticidas**

Tipo químico	Ejemplo	Estructura	Acción típica
Organoclorados	p,p'-DDT		Insecticida
Organofosforados	Malathion		Insecticida
Carbamatos	Carbaryl		Insecticida
Ditiocarbamatos	Thiram	$(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{CS}-\text{S}-\text{CNSN}(\text{CH}_3)_2$	Fungicida
Derivados de ácido carboxílicos	2,4-D		Herbicida
Ureas sustituidas	Diuron		Herbicida
Triazinas	Simazine		Herbicida
Piretroides	Cipermetrina		Insecticida
Productos de neem	Nimbidin (Azadirachtin)	$\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{O}_{16}$	Insecticida
Organometálicos	Acetato de fenilmercurio		Fungicida
Tiocianatos	Lethane 60	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{C}(=\text{O})-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{SCN}$	Insecticida

«continuación»

Tipo químico	Ejemplo	Estructura	Acción típica
Fenoles	Dinitrocresol		Insecticida
Formamidas	Insecticida Chlordimeform		Insecticida

FUENTE: Adaptado de Singh *et al.* (2012)

De acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de los plaguicidas según el nivel de riesgo, se distingue entre las formas más y menos peligrosas de cada plaguicida basándose en la toxicidad del compuesto técnico y en sus formulaciones (Tabla 13). Se observa un menor riesgo de los sólidos con respecto de los líquidos. Esta clasificación, se basa principalmente en la toxicidad aguda oral y dérmica en ratas, ya que estas determinaciones son procedimientos estándar en toxicología. Cuando el valor dérmico de DL<sub>50</sub> de un compuesto sea tal que lo coloque en una clase más restrictiva de la que indicaría el valor oral de DL<sub>50</sub>, el compuesto se clasificará en la clase más restrictiva.

**Tabla 13: Clasificación de pesticidas (WHO)**

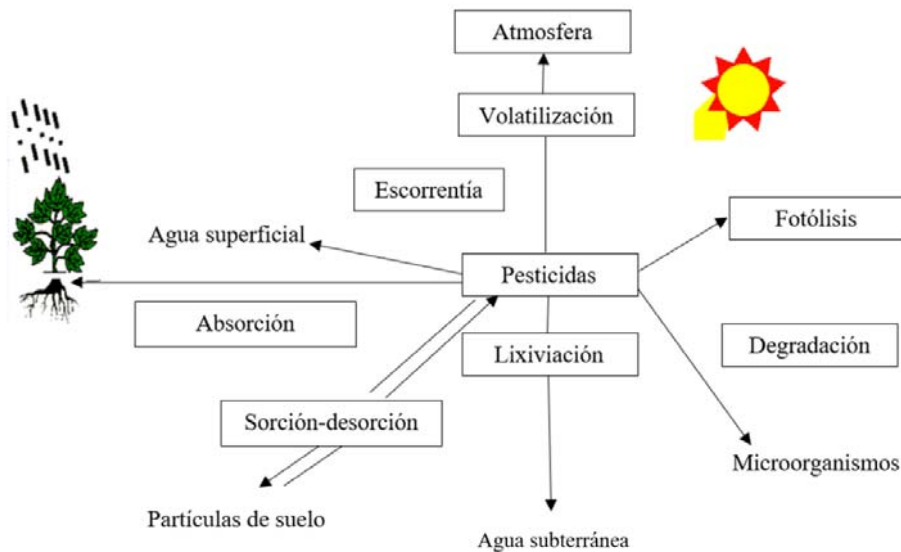
Clase		DL <sub>50</sub> en ratas (mg·kg <sup>-1</sup> del peso corporal)			
		Toxicidad oral		Toxicidad dérmica	
		Sólidos <sup>(1)</sup>	Líquidos <sup>(1)</sup>	Sólidos <sup>(1)</sup>	Líquidos <sup>(1)</sup>
Ia	Extremadamente peligroso	≤5	≤20	≤10	≤40
Ib	Altamente peligroso	5-50	20-200	10-100	40-400
II	Moderadamente peligroso	50-500	200-2000	100-1000	40-4000
III	Ligeramente peligroso	≥501	≥2001	≥1001	≥4001

FUENTE: WHO (2002)

<sup>(1)</sup> Los términos "sólidos" y "líquidos" se refieren al estado físico del ingrediente activo clasificado.

## b. COMPORTAMIENTO AMBIENTAL

Los pesticidas se someten a muchos diferentes procesos una vez que ingresan al medio ambiente, incluyendo transformación/degradación, sorción-desorción, volatilización, absorción por las plantas, escorrentía a aguas superficiales y transporte a aguas subterráneas (Figura 8). Entre ellos, la transformación/degradación es la vía más importante que elimina los pesticidas del medio ambiente, mientras que muchas otras vías simplemente conducen a la migración de plaguicidas (Gao *et al.*, 2012). La degradación de plaguicidas en el suelo está relacionada con varias interacciones complejas que involucran procesos químicos, físicos y biológicos. Es conocido que la adsorción de plaguicidas en suelos puede destruir la composición y la estructura original de las comunidades de microorganismos naturales en diferentes niveles, resultando una disminución de la actividad ecológica y diversidades funcionales y metabólicas de los suelos (Ibekwe *et al.*, 2001).



**Figura 8: Descripción general del destino y las vías de transporte de los plaguicidas en el medio ambiente**

FUENTE: Gao *et al.* (2012)

A continuación, se describe brevemente cada uno de los procesos que rigen el comportamiento y transporte de los plaguicidas en el medio ambiente.

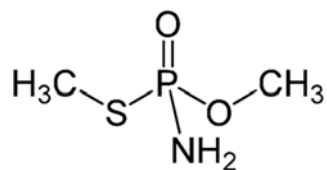
- **Transformación y degradación:** este proceso incluye la degradación abiótica (oxidación, hidrólisis y fotólisis) y la biodegradación. Durante este proceso, un pesticida se transforma en un producto de degradación o se mineraliza completamente en dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).
- **Sorción y desorción:** la adsorción juega un papel importante en la determinación del destino y el transporte de un pesticida ya que reduce la biodisponibilidad y movilidad del pesticida y, en consecuencia, su impacto en el medio ambiente y la salud. Además, influye en la dinámica del transporte advectivo-dispersivo, la persistencia, la transformación y la bioacumulación de plaguicidas.
- **Volatilización:** la volatilización es la capacidad de una sustancia, de evaporarse y pasar a la fase gaseosa a una presión y temperatura determinadas. Un pesticida puede moverse al aire desde todas las superficies y así transportarse a lugares más lejanos del sitio de aplicación. Este movimiento en el aire también se llama «deriva» y puede inducir daños a cultivos, ganado, humanos y otros organismos vivos cercanos.
- **Absorción por las plantas:** la absorción es el movimiento de pesticidas hacia las plantas y está influenciado por las condiciones ambientales y las propiedades fisicoquímicas de los pesticidas y los suelos. Un pH bajo aumentará la absorción de pesticidas y la presencia de materia orgánica puede disminuir la absorción de plaguicidas por las plantas.
- **Escorrentía superficial:** los plaguicidas pueden transportarse a los cuerpos de agua superficial a través del flujo superficial. Si bien el movimiento de plaguicidas puede ser beneficioso, dado que la lixiviación en la zona de la raíz de la planta proporciona un mejor control de plagas, sin embargo, el transporte de plaguicidas por escorrentía es dañino.
- **Lixiviación a través del perfil de suelo:** los pesticidas tienen el potencial de migrar a las aguas subterráneas bajo ciertas condiciones y pueden conducir a la contaminación del agua subterránea. La lixiviación de pesticidas a través de los suelos es, sin duda, la ruta más importante por la cual estas sustancias químicas se infiltran en las aguas subterráneas.

### c. PLAGUICIDAS EVALUADOS

- **Metamidofos**

El metamidofos es un compuesto organofosforado químico con el nombre común O, S-dimetil-fosforamidotioato (Figura 9). Se usa como un pesticida sistémico con acción por contacto e ingestión para combatir insectos masticadores y chupadores; puede ser absorbido por ingestión, inhalación y contacto.

El metamidofos ya no tiene aprobación para su uso en la UE. Es altamente soluble en agua y muchos solventes orgánicos, y es volátil. Por lo general, no se espera que sea persistente en los sistemas de suelo o agua. El metamidofos es altamente tóxico para los mamíferos y es un inhibidor de la colinesterasa y neurotoxina. Es altamente tóxico para las aves y las abejas, y moderadamente tóxico para la mayoría de las especies acuáticas y lombrices (PPDB, 2018).



**Figura 9: Estructura molecular del metamidofos**

FUENTE: FAO, 1997

En la Tabla 14 se muestran las propiedades fisicoquímicas del ingrediente activo metamidofos.



**Tabla 14: Propiedades fisicoquímicas del Metamidofos**

Parámetro	Metamidofos
Fórmula química	C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>2</sub> PS
Peso molecular	141,1 g·mol <sup>-1</sup>
Log K <sub>ow</sub>	-0,79
K <sub>oc</sub>	1
Solubilidad de agua	200 g·L <sup>-1</sup> a 20 ° C
Presión de vapor	4.7 mPa (25°C)
Fotólisis en agua	90 días a pH 7
Vida media (campo)	4 días
CAS #	10265-92-6

FUENTE: PPDB (Pesticides Properties DataBase-Universidad de Hertfordshire) (2018)

En la Tabla 15 se presenta la clasificación de peligrosidad del metamidofos establecido por organismos internacionales.

**Tabla 15: Clasificación de los peligros del metamidofos por organismos internacionales**

Organismo	Descripción				
(OMS,1996)	Producto técnico: 1b (sumamente peligroso), clasificación basada en la toxicidad oral				
	Clasificación de los preparados				
		Toxicidad oral		Toxicidad dérmica	
		DL <sub>50</sub> : 30 mg·kg <sup>-1</sup> de peso corporal		DL <sub>50</sub> : 50 mg·kg <sup>-1</sup> de peso corporal	
	Preparado	i.a. (%)	Clase de peligro	i.a. (%)	Clase de peligro
	Líquido	>10 >1	Ib II	>10 >1	Ib II
	Sólido	No existen preparados sólidos de metamidofos			
EPA	Categoría 1 (sumamente tóxico)				
UE	T+ (muy tóxico)				
CHIC	Sin clasificar				

FUENTE: FAO, 1997

i.a.=ingrediente activo

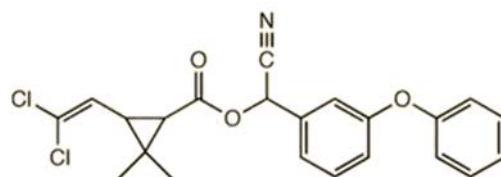
De acuerdo al Servicio Integrado de Gestión de Insumos Agropecuarios (SIGIA) del Perú, para el ingrediente activo metamidofos existen 17 marcas comerciales en dos (02) tipos de formulaciones (concentrado soluble y concentrado emulsionable). Cabe resaltar que de acuerdo al Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), clasifica al metamidofos como plaguicida de uso restringido.

- **Alfa-cipermetrina**

La alfa-cipermetrina es un insecticida piretroide ampliamente utilizado que está aprobado para su uso en la UE. Tiene una baja solubilidad acuosa, relativamente volátil y, debido a sus propiedades químicas, no se espera que se filtre al agua subterránea. Sin embargo, se considera un serio contaminante del agua. Es moderadamente persistente en el suelo y se sabe que persiste en el agua. Es altamente tóxico para los mamíferos y un irritante reconocido. Es relativamente no tóxico para las aves, pero es altamente tóxico para la mayoría de los organismos acuáticos y las abejas melíferas. La alfa-cipermetrina es moderadamente tóxica para las lombrices de tierra (PPDB, 2018).

Se usa como insecticida en entornos agrícolas y reemplaza cada vez más a organofosforados y carbamatos debido a las menores tasas de aplicación y la menor toxicidad para los mamíferos (Hartnik *et al.*, 2008).

Comprende los isómeros alfa C de la cipermetrina, se considera dos o tres veces más tóxica que la cipermetrina. De acuerdo con el análisis de Solomon *et al.* 2001 citado por Hartnik *et al.*, 2008, se puede clasificar como uno de los piretroides más efectivos. (Figura 10)



**Figura 10: Estructura molecular del alfa-cipermetrina**

FUENTE: PPDB (Pesticides Properties DataBase-Universidad de Hertfordshire) (2018)

En la Tabla 16 se muestra las propiedades fisicoquímicas del alfa-cipermetrina.

**Tabla 16: Propiedades fisicoquímicas del Alfa-cipermetrina**

<b>Parámetro</b>	<b>Alfa-cipermetrina</b>
Fórmula química	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>
Peso molecular	416.30 g·mol <sup>-1</sup>
Log K <sub>ow</sub>	5,5
K <sub>oc</sub>	57 889
Solubilidad de agua	0,004 mg·L <sup>-1</sup> a 25 °C
Presión de vapor	0,00034 mPa a 25 °C
Fotólisis en agua	-*
Vida media	35 días
CAS #	67375-30-8

FUENTE: PPDB (Pesticides Properties DataBase-Universidad de Hertfordshire) (2018)

\*Muy lenta degradación por luz solar

De acuerdo al SIGIA del Perú, el ingrediente activo de alfa-cipermetrina existen en 89 marcas comerciales en cuatro (04) presentaciones de formulación: concentrado emulsionable, concentrado soluble, gránulos dispersables y suspensión concentrada.

## **2.2.7 EVALUACIÓN DE TOXICIDAD EN SISTEMAS TERRESTRES**

### **a. PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA**

La toxicidad aguda se estudia por contacto, ingestión o inyección de la sustancia de ensayo en lombrices de tierra. La principal ventaja de las pruebas de laboratorio es que las condiciones ambientales controladas son posibles y reproducibles (Stanley y Preetha, 2016). En la Tabla 17 se detalla los tipos de pruebas de toxicidad aguda.

**Tabla 17: Tipos de pruebas de toxicidad aguda**

<b>Tipo de prueba</b>	<b>Método</b>	<b>Descripción</b>
<b>Pruebas de toxicidad de contacto</b>	Aplicación tópica (Christensen y Mather, 1994)	Las lombrices de tierra se seleccionan por edad y tamaño. Luego el pesticida se aplica tópicamente sobre la piel de la lombriz de tierra (dorso anterior a clitellum) por medio de un micro-aplicador o un pincel.
	Revestimiento de vial/bioensayo de contaminación (Park <i>et al.</i> , 2012)	Se coloca la solución de pesticida en acetona en un vial a razón de 10 µl/vial y se deja hasta que se evapore totalmente la acetona, para luego introducir las lombrices de tierra con la adición de 1 ml de agua desionizada.
	Papel filtro (OECD, 1984; Iordache y Borza, 2011)	Se coloca papel filtro en viales y se introduce 1 mL de concentración de solución de pesticida. Una vez seco se añade 1 ml de agua destilada e introduce una lombriz de tierra. Los viales se colocan en posición horizontal en condiciones de laboratorio durante 72 h y se observa la mortalidad.
	Prueba de papel de filtro utilizando placas de Petri (Wang <i>et al.</i> , 2012)	La sustancia de ensayo se disuelve en acetona y se añade 2 ml de la solución a una placa de Petri de 9 cm. Se deja evaporar al disolvente y se humedece el papel de filtro con 2 ml de agua destilada y luego se coloca una lombriz de tierra.
	Prueba de inmersión (Roark y Dale 1979)	Se coloca 10 lombrices de igual tamaño en un recipiente de metal cilíndrico especial (7,5 × 6,5 cm) con fondo de pantalla galvanizado de malla 16 con una solución/suspensión de plaguicidas (500 ml). Aunque esta prueba es fácil de hacer y revela las concentraciones letales medianas, no está directamente relacionado con las dosis del suelo.

FUENTE: Adaptado de Stanley *et al.* (2016).

«continuación»

Tipo de prueba	Método	Descripción
<b>Prueba de toxicidad por ingestión</b>	Prueba de alimentación forzada (Christensen y Mather 1994)	El pesticida es directamente aplicado en el esófago de la lombriz de tierra. La sustancia problema se prepara en forma de suspensión en gel de agar. La desventaja de este método es que se puede usar solo para gusanos más grandes y solo toma en cuenta la exposición intestinal y no la piel.
	Voluntary feeding – Contaminated feed test (Roark y Dale, 1979)	Esta prueba determina si la ingestión de los recortes de hierba tratados con plaguicidas fue perjudicial para las lombrices de tierra. Toma recortes de hierba libre de plaguicidas, los cuales se secan y trituran finamente. Las muestras molidas (15 g) se agitan con 100 ml de soluciones de pesticidas con concentración requerida.
<b>Ingestión y toxicidad por contacto: Ensayos de contaminación del suelo</b>	Prueba de contaminación del suelo en contenedores de vidrio (OECD, 1984)	Se prepara una formulación estándar de suelo artificial (10% de turba de musgo sin restos vegetales visibles y finamente molido, 20% de arcilla de caolín y 70% de arena) y se mezcla con cierto rango de concentraciones del químico de prueba seguido por la adición de las lombrices a cada mezcla, se evalúan tasas de mortalidad post-tratamiento el día 7 y el día 14.
	Pruebas de artisol (Heimbach, 1984)	La prueba de artisol usa un sustrato artificial que consiste en sílice, agua y bolas de vidrio. El artisol se trata con pesticida y se introduce la lombriz. En la prueba de artisol, las lombrices ingieren la pasta de sílice como lo hacen con el suelo. Esto es una desventaja por lo que no se usa ampliamente.
	Pruebas con suelo natural	Se inyectan distintas concentraciones del químico de prueba en suelo limpio natural, se ponen las lombrices en cada muestra en una cámara, se evalúan tasas de mortalidad post-tratamiento el día 7 y el día 14.
<b>Bioensayos de inyección</b>	Bioensayo de inyección (Park <i>et al.</i> , 2012)	Se prepara una solución de prueba y se inyecta (1 µL) en la lombriz anestesiada, directamente detrás del clitelo, utilizando un microaplicador (Fisher, 1984). Los gusanos inyectados se crían en el suelo con la comida y las condiciones adecuadas. La mortalidad de las lombrices en cada concentración de pesticida se registra después de 48 h de exposición.

FUENTE: Adaptado de Stanley *et al.* (2016).

## **b. PRUEBAS DE TOXICIDAD CRÓNICA**

Las pruebas de toxicidad crónica o de toxicidad subletal, se controlan después de la exposición continua a dosis subletales o concentración durante un período de tiempo determinado. Los puntos finales de interés para las pruebas de toxicidad crónicas son la esperanza de vida, el aumento de peso, la reproducción, el cáncer y los defectos de nacimiento (Rathore y Nollet, 2012).

En bioensayos de toxicidad subletal, generalmente se estudia la evaluación de los efectos de pesticidas sobre el crecimiento y la reproducción de las lombrices. La mayoría de las pruebas de toxicidad subletales implican el uso de bioensayo de contaminación del suelo, pero con puntos finales subletales. Si se van a estudiar los puntos finales subletales, el tiempo de exposición es considerablemente mayor con respecto a la toxicidad aguda y, por lo tanto, se agrega comúnmente alimento adicional (Stanley y Preetha, 2016).

En la Tabla 18 se presentan una breve descripción de diferentes ensayos de toxicidad subletal.

**Tabla 18: Ensayos de toxicidad subletal**

<b>Ensayo</b>	<b>Descripción</b>
Ensayos para el crecimiento de lombrices de tierra (Zhou <i>et al.</i> , 2007)	Este procedimiento se basa en Khalil <i>et al.</i> (1996). Estas pruebas se ajustan a la prueba de toxicidad aguda con suelos contaminados, pero la duración de la incubación es más larga y se dan alimentos adicionales para apoyar a los gusanos durante un período más largo.
Ensayos de reproducción - producción de capullos y eclosión (Zhou <i>et al.</i> , 2007)	Este procedimiento de prueba es exactamente como el de la prueba de crecimiento, pero con observaciones sobre la producción de capullo después de 28 días y el número de juveniles incubados después de 56 días como puntos finales. Además, incluye parámetros reproductivos tales como producción de capullos, eclosión y cambio en peso de adultos.
Ensayos para el desarrollo sexual	El punto final subletal del desarrollo sexual tiene una relevancia ecológica por la disminución de la densidad de población. El mismo bioensayo de contaminación del suelo se usa para estudiar el efecto de los pesticidas en desarrollo de lombrices, pero con los puntos finales como el tiempo hasta la madurez, desarrollo de clitelo, etc.

FUENTE: Adaptado de Stanley y Preetha, 2016

Además, de las pruebas de toxicidad subletales mencionadas, ensayos subletales sobre el comportamiento, implican estudios sobre evitación. El bioensayo de evitación es quizás la prueba de comportamiento más utilizado para estudiar el efecto de los pesticidas en la lombriz de tierra. Estas pruebas son simples, efectivas, fáciles y muestran si el pesticida causa algún comportamiento de evitación o repulsión en los gusanos. Esta prueba muestra la capacidad de los gusanos para detectar compuestos tóxicos y deciden escapar de ellos (Stanley y Preetha, 2016).

La exposición crónica a pequeñas cantidades de residuos a través del consumo de alimentos contaminados puede llevar a la supresión del sistema inmune, lo que a su vez

puede hacer que los humanos sean vulnerables a las enfermedades infecciosas. Los experimentos de laboratorio han indicado que algunos residuos de plaguicidas pueden causar carcinogenicidad en exposiciones prolongadas (Rathore y Nollet, 2012).

### **2.2.8 EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL**

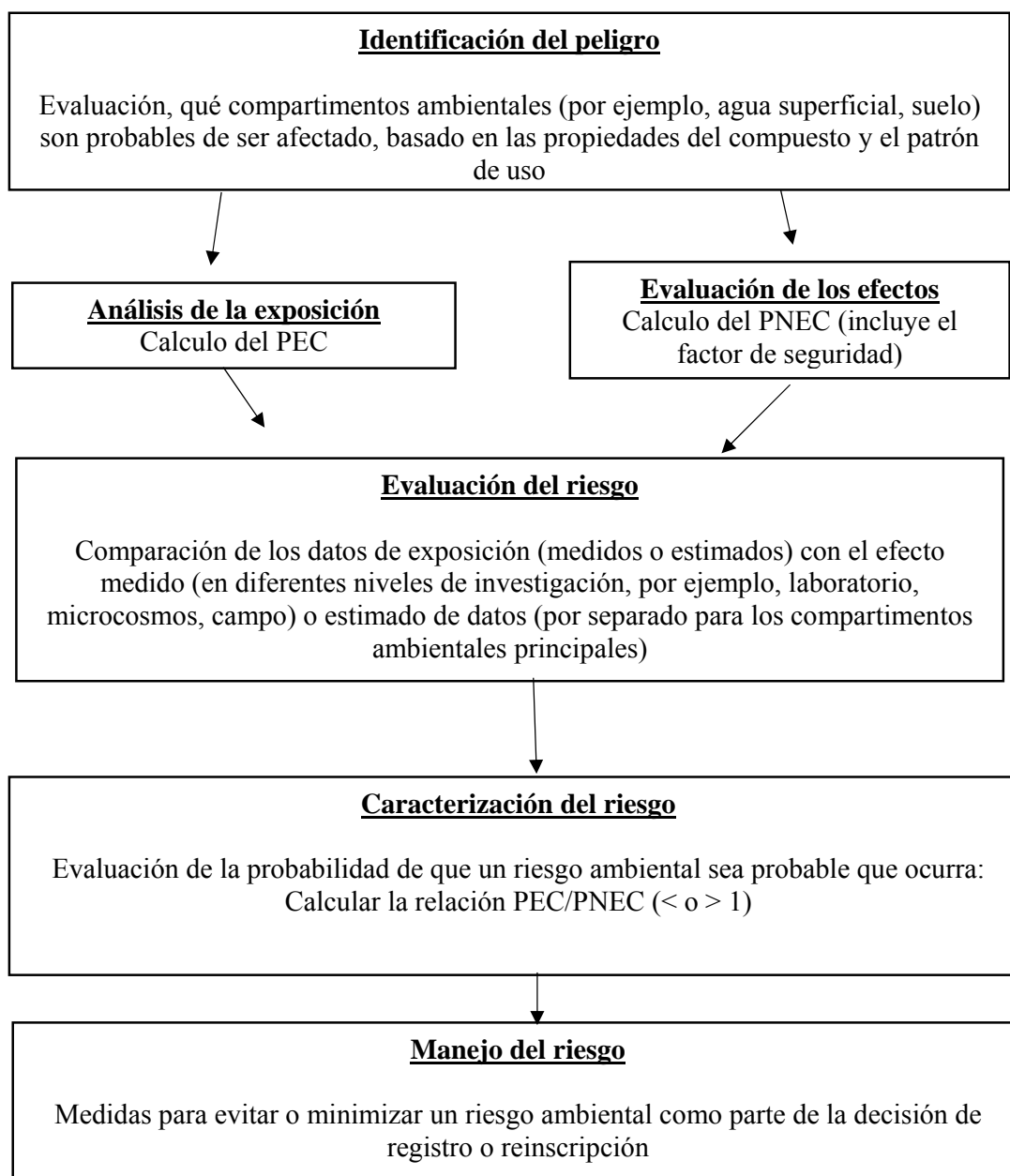
La definición más estricta fue dada por Barnthouse (1992), quien define la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA), como «un medio sistemático para desarrollar una base científica para la toma de decisiones regulatorias en un proceso iterativo». ERA fue desarrollado en los Estados Unidos, en primer lugar, para evaluar el riesgo de los productos químicos para los seres humanos, pero luego fue adaptado para el medio ambiente (Fava *et al.*, 1987, OECD, 1989). La Unión Europea comenzó a utilizar ERA para el registro de plaguicidas. Más tarde, también se requirieron ERA para la notificación de productos químicos nuevos y existentes y para el registro de biocidas (EC, 2003). Básicamente un ERA consta de los siguientes pasos:

1. Identificación de peligros
2. Análisis de exposición (PEC) y efectos (PNEC)
3. Caracterización del riesgo (relación PEC/PNEC)
4. Manejo del riesgo

En la Figura 11 se presenta el proceso general de la ERA. Al determinar la relación PEC/PNEC, inicialmente dos (02) clases de evaluación son definidas para categorizar el resultado de la ERA:

- $PEC/PNEC > 1$ : Es necesario mejorar el análisis de exposición y efecto
- $PEC/PNEC < 1$ : No indicación potencial riesgo ambiental





**Figura 11: Proceso general de la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA)**

FUENTE: García (2004)

Además, una ERA, calcula la probabilidad de que se presenten efectos negativos en ecosistemas y los componentes biológicos de los mismos, debido a actividades antropogénicas (Ramírez-Romero y Mendoza-Cantú, 2010). Para Gruiz *et al.*, 2015, la

ERA integra metodologías toxicológicas y químicas para la identificación de la presencia, el destino y los efectos adversos de la liberación de sustancias químicas en el medio ambiente.

A nivel mundial este tipo de estudio es usado por las autoridades para tomar decisiones de manejo ambiental ya que tiene la capacidad de predecir y estimar la probabilidad y magnitud de un evento, así como identificar valores de interés y vacíos de información. En ese sentido la ERA es una herramienta esencial para respaldar científicamente la toma de decisiones en un amplio rango de disciplinas incluyendo la regulación de sustancias químicas (Villa *et al.*, 2003).

La valoración de riesgo de una sustancia potencialmente nociva está en función de diversos factores: la exposición a la sustancia, los efectos resultantes de esta exposición y los organismos expuestos a la sustancia contaminante. De esta forma, la valoración del riesgo ambiental se puede definir como «la valoración cuantitativa de la probabilidad de que se verifique un cierto efecto ambiental como resultado de la exposición a una sustancia contaminante» (Vighi y Calamari, 1998).

Para la correcta valoración del riesgo se debe tener en cuenta factores intrínsecos de la sustancia a evaluar y, factores extrínsecos dependientes de las características de las emisiones o de las propiedades ambientales (Peña *et al.*, 2001). Por lo tanto, una evaluación del riesgo se basa en la integración e interacción de dos elementos: la caracterización de la exposición y la caracterización de los efectos que derivan de esta exposición.

#### **a. ERA DE PESTICIDAS**

Según la EPA la evaluación de riesgos relacionado a pesticidas se define por los siguientes elementos (EPA, U.S., OCSPP y OPP, 2015).

- **Caracterización de la exposición:** Estima la exposición potencial de plantas, animales y fuentes de agua a residuos de pesticidas en los mismos. Esta caracterización incluye información sobre la frecuencia, el tiempo y la cantidad de pesticidas a los que un organismo puede estar expuesto. Se basa en el destino

ambiental y los datos de transporte, así como en información de modelado y monitoreo.

- **Caracterización de los efectos ecológicos:** Describe los tipos de efectos que un plaguicida puede producir en un organismo y cómo esos efectos cambian con los diferentes niveles de exposición a los plaguicidas. Esta caracterización se basa en un perfil de efectos ecológicos (evaluación) que describe la información de los efectos disponibles (toxicidad).

En conjunto estos dos componentes generan la caracterización del riesgo, la cual incluye la estimación y descripción del riesgo.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 MATERIALES Y EQUIPOS**

Para el desarrollo de la presente investigación, se utilizaron los siguientes insumos y materiales:

- Arena industrial fina
- Caolín (INSUMEX S.A.)
- Musgo (Renemar S.A.)
- Cloruro de potasio (KCl)
- Papel filtro N° 4 WHATMAN
- Plaguicidas en su marca comercial: MATADOR® 600 SL (i.a. Metamidofos) y CIPERMEX® SUPER 10 CE (i.a. Alfa-cipermetrina)
- Agua destilada
- Envases de plástico de 1 L
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL

Asimismo, para llevarse a cabo la presente investigación fue necesario el uso de los siguientes equipos:

- Estufa de secado y esterilización FANEM Modelo 315 SE
- Moedor de granos casero
- Tamiz N° 10 - ASTM E 11/95 (2 mm)
- Balanza analítica AND GH-200
- PH-METRO Hanna

### 3.2 PREPARACIÓN DE SUELO ARTIFICIAL

El suelo artificial (SA) fue preparado de acuerdo a los lineamientos establecidos en la Guía 207: “Earthworm, Acute Toxicity Tests” (OECD, 1984) (ANEXO 1). En la Figura 12 se presenta los componentes del SA preparado.



**Figura 12: Componentes del suelo artificial preparado**

FUENTE: Elaboración propia

Se prepararon tres (03) lotes de SA haciendo un total de 25 kg como se muestra en la Tabla 19, con la finalidad de lograr una mejor homogenización y dado que los ensayos fueron desarrollados en dos (02) etapas.

**Tabla 19: Cantidad de suelo artificial preparado**

<b>Composición</b>	<b>Porcentaje (%)</b>	<b>Lote 1 (g)</b>	<b>Lote 2 (g)</b>	<b>Lote 3 (g)</b>	<b>Cantidad (g)</b>
Arena cuarcítica	70	4 200	7 000	7 000	18 200
Arcilla caolinítica	20	1 200	2 000	2 000	5 200
Turba/Musgo	10	600	1 000	1 000	2 600
Total	100	6 000	10 000	10 00	26 000

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizaron seis (06) ensayos, los cuales serán descritos con detalle más adelante. La cantidad de suelo artificial preparado utilizado para cada ensayo, se detalla en la Tabla 20:

**Tabla 20: Cantidad de suelo artificial total utilizado en cada ensayo**

<b>Insumo</b>	<b>Unidad</b>	<b>Ensayo</b>						<b>Total</b>
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	
Suelo artificial	g	4 800	4 800	4 800	4 800	3250	3250	25 700

FUENTE: Elaboración propia.

En el laboratorio se determinó el pH usando (ASTM, 2007) y se calculó la capacidad de retención de agua (WHC) utilizando el método descrito por el Centro de Tecnología Ambiental de Canadá (2007) (ANEXO 2).

Para la determinación de sus propiedades fisicoquímicas, se envió 500 g de suelo artificial preparado al Laboratorio de suelo y agua de la UNALM. En el ANEXO 3 se muestran los resultados reportados por el laboratorio.

### **3.3 SUELO AGRÍCOLA**

Para la evaluación de riesgo ambiental en un escenario real, se tomaron muestras de suelo de una parcela de cultivo de papa de dos (02) meses de edad ubicado en la zona llamada ex Hacienda Torre Blanca en el valle de Huaral (253 000 mE, 8 724 000 mN, 80 msnm). (Figura 13)

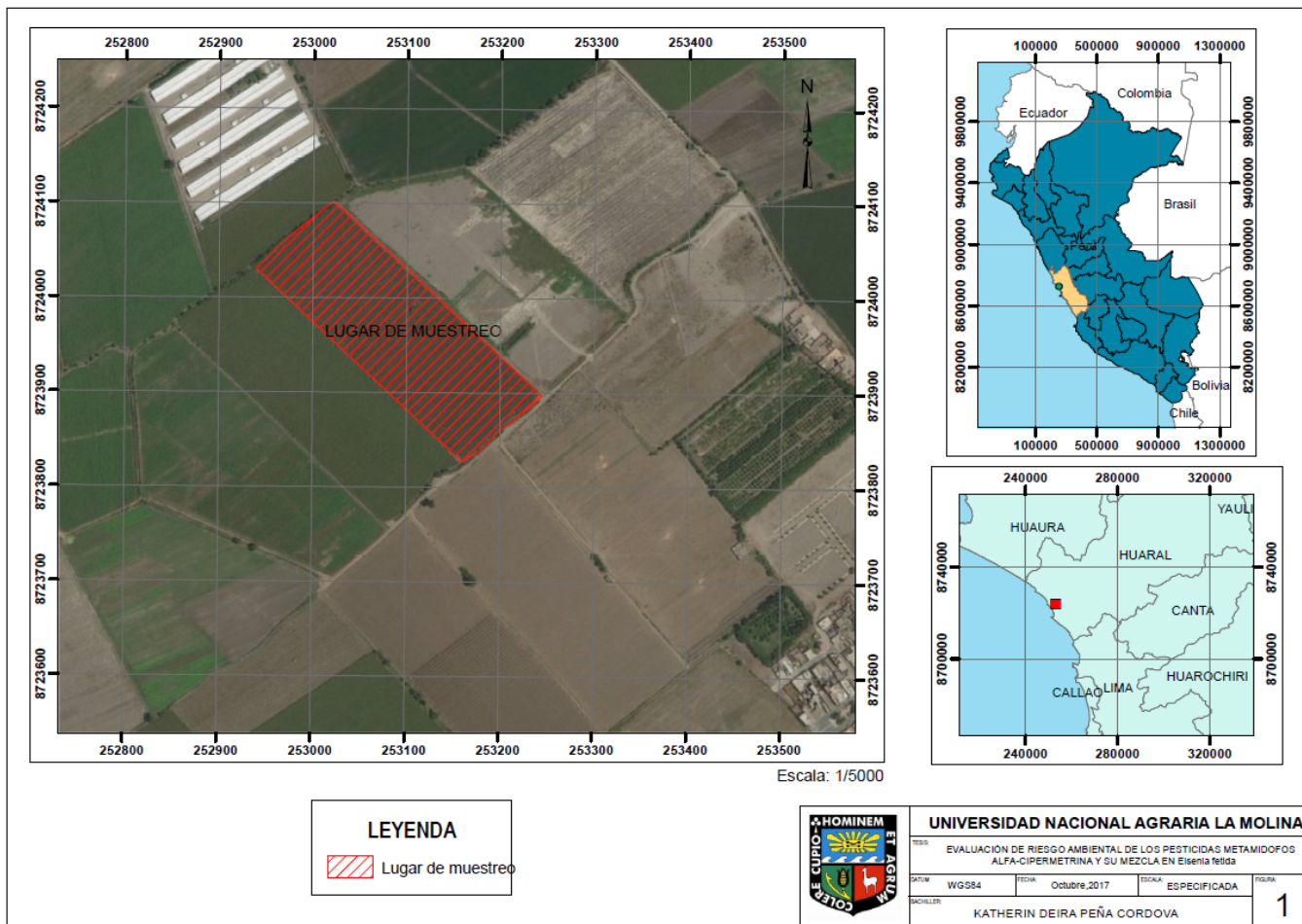


Figura 13: Mapa de ubicación del lugar de muestreo

Para la determinación de sus propiedades fisicoquímicas, se envió 500 g de suelo agrícola preparado al Laboratorio de suelo y agua de la UNALM. En el ANEXO 4 se presenta el informe de ensayos emitidos por el laboratorio.

Se colectaron dos (02) muestras: la primera muestra fue colectada inmediatamente después de la aplicación de ambos plaguicidas (Suelo “A”) y la segunda muestra a los cinco (05) días de la aplicación (Suelo “B”).

El método de muestreo realizado fue compuesto tomándose puntos de forma aleatoria dentro del lote agrícola. Se colectaron 200 g de muestra con una profundidad de muestreo superficial entre 0 a 5 cm (capa arable), en envases de vidrio boca ancha y color ámbar para evitar la evaporación y se conservaron a  $< 6$  °C. Inmediatamente después del muestreo se etiquetaron y se enviaron al laboratorio certificado (AGQ S.A.) y fueron analizados con el Método de Compuestos Orgánicos Semivolátiles por Cromatografía de Gases/Espectrometría Masa de la USEPA (EPA 8 270 Rev. 4 2007) para identificar la concentración de los plaguicidas aplicados e identificar otros compuestos presentes.

Asimismo, para determinar el efecto tóxico de las muestras de suelo agrícola se colectaron cinco (05) kg de suelo en una bolsa plástica de color oscuro. Una vez colectadas fueron puestos en un cooler para preservar la muestra a menos de 6° C y realizar los bioensayos con *E. andrei*.

### **3.4 SUSTANCIAS PRUEBA**

#### **3.4.1 METAMIDOFOS**

Se utilizó el compuesto formulado MATADOR® 600 SL<sup>1</sup> (AgroKlinge S.A., concentrado soluble, categoría IA, altamente peligroso), que es un insecticida organofosforado de triple acción (sistémico, contacto e ingestión) y largo poder residual. Eficaz en el control de una amplia gama de insectos que atacan a diversos cultivos y se caracteriza por presentar un periodo de carencia de 21 días. La dosis recomendada para el cultivo de papa y maíz es de

---

<sup>1</sup> N° Registro: 334-97-AG-SENASA



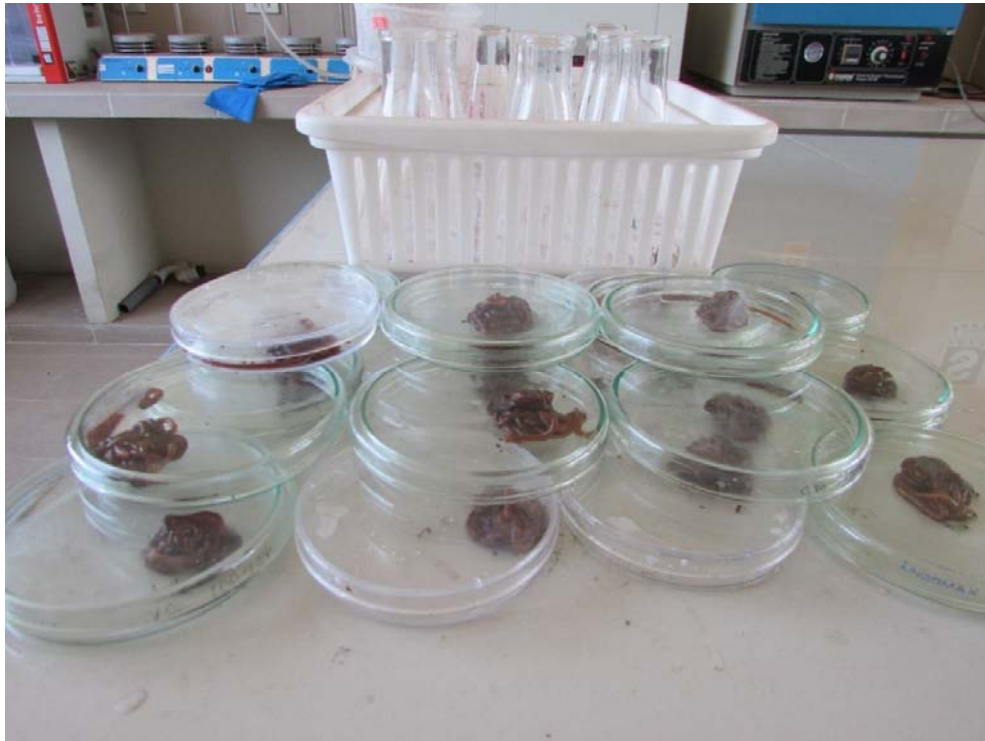
1 a 2 L·ha<sup>-1</sup> y entre 0,4 a 0,8 L por cilindro (200 L). En el ANEXO 5 se muestra su ficha técnica.

### **3.5 SELECCIÓN DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA**

Todos los ensayos se realizaron con lombrices rojas adultas con clitelo visible de la especie *E. andrei*, al cual se le realizó un reconocimiento previo para confirmación de su especie (Domínguez y Pérez-Losada, 2010). Se seleccionaron las lombrices con un peso individual promedio entre 350 - 550 mg del mismo cultivo y la misma especie. (Figura 14)

Los organismos fueron obtenidos de la Estación de Producción e Investigación en Lombricultura (EPILO) del Proyecto CEMTRAR (Centro Modelo de Tratamiento de Residuos) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Estos organismos pueden desarrollarse en diferentes residuos animales, especialmente en estiércol de caballo o en una mezcla 50:50 de estiércol y maleza. En el ANEXO 7 se muestra el esquema de flujo de material de la planta de lombricultura.

Las lombrices fueron seleccionadas y aclimatadas en el suelo artificial durante 24 h antes del inicio de los ensayos, posteriormente fueron lavadas colocándose en cajas Petri (Ø: 15 cm) con papel filtro para que pudieran limpiarse por sí mismas a través de su movimiento durante tres (03) h y secada con papel adsorbente durante tres (03) h más.



**Figura 14: Preparación de los organismos de prueba previo al ensayo**

FUENTE: Elaboración propia

### **3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Los bioensayos fueron desarrollados en el laboratorio de CEMTRAR. Cada ensayo fue validado, de acuerdo al porcentaje de mortalidad en el control, el cual no excedió al 10 % al final del período de exposición, de acuerdo a lo recomendado en la Guía 207 (OECD, 1984). Asimismo, se realizó controles negativos, para asegurar que las condiciones utilizadas en la prueba fueron adecuadas y no presentarán ningún cambio significativo. En las Figura 15, Figura 16 y Figura 17 se presentan el registro fotográfico del desarrollo de los ensayos.



**Figura 15: Aplicación de la dilución de plaguicida a cada unidad experimental**

FUENTE: Elaboración propia



**Figura 16: Agregado de lombrices a cada unidad experimental**

FUENTE: Elaboración propia



**Figura 17: Unidades experimentales finales**

FUENTE: Elaboración propia

Se realizaron seis (06) ensayos estáticos de toxicidad aguda de 14 días, las cuales se detallan a continuación.

### **3.6.1 ALFA-CIPERMETRINA**

Se utilizó el compuesto formulado CIPERMEX® SUPER 10 CE<sup>2</sup> (FARMEX S.A., concentrado emulsionable, categoría III moderadamente peligroso), que es un insecticida piretroide que actúa por contacto e ingestión, por lo que se recomienda contra insectos masticadores, chupadores y picadores chupadores. Por su amplio y alta actividad, controla a dosis bajas estados larvales, ninfales y adulto. La dosis para el cultivo de papa es de 0,4 a 0,5 L·ha<sup>-1</sup>. En el ANEXO 6 se muestra su ficha técnica.

---

<sup>2</sup> N° Registro: 428-97-AG-SENASA

### **3.6.2 TÓXICO DE REFERENCIA**

Se realizó un (01) ensayo para evaluar la sensibilidad de *E. andrei*, mediante su exposición a cloruro de potasio (KCl). Para este ensayo se establecieron cinco (05) tratamientos con niveles de concentraciones nominales de KCl (2, 4, 6, 8 y 10 mg·kg<sup>-1</sup>) y un (01) control, para cada uno de los cuales se hicieron cuatro (04) réplicas. En cada unidad experimental se colocaron 10 individuos y se cuantificaron los puntos finales de mortalidad y peso húmedo al día 0, 7 y 14 días.

### **3.6.3 PLAGUICIDAS**

Se realizaron ensayos individuales con los plaguicidas TAMARON (i.a. metamidofos) y CIPERMEX (i.a. alfa-cipermetrina). Se consideraron cinco (05) tratamientos con niveles concentraciones (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> y C<sub>5</sub>).

Para el bioensayo con metamidofos se emplearon cuatro (04) repeticiones con las siguientes concentraciones nominales consideradas: 1, 5, 15, 35 y 65 mg·kg<sup>-1</sup> de suelo, más el control. Se preparó una solución diluida de 0,6 g·L<sup>-1</sup> a partir de la concentración original del plaguicida (600 g·L<sup>-1</sup>), de la cual se extrajeron alícuotas para cada nivel de concentración, determinados de acuerdo a los cálculos adjuntados en el ANEXO 8.

En el caso de alfa-cipermetrina se usaron cuatro (04) repeticiones en cada uno de los cinco (05) tratamientos con las siguientes concentraciones nominales establecidas: 3, 10, 100, 300 y 2 000 mg·kg<sup>-1</sup> de suelo, más el control. Se preparó una solución diluida de 100 mg·L<sup>-1</sup> a partir de la concentración original del plaguicida (10 g·L<sup>-1</sup>), de la cual se extrajeron alícuotas para cada nivel de concentración, determinados de acuerdo a los cálculos adjuntados en el ANEXO 8.

### **3.6.4 MEZCLA**

Para determinar el efecto tóxico de la mezcla de los plaguicidas evaluados anteriormente, se desarrolló un ensayo de la mezcla, de acuerdo a lo propuesto por Chen *et al.* (2014). Los niveles de concentración fueron considerados, tal como se muestra en la Tabla 21.

**Tabla 21: Diseño experimental – Mezcla de plaguicidas (Ensayo 4)**

Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )	Metamidofos	Alfa- cipermetrina	Metamidofos (mg·kg <sup>-1</sup> )	Alfa- cipermetrina (mg·kg <sup>-1</sup> )
Control	0	0	0	0
C <sub>1</sub>	0,0625 DL <sub>50</sub>	0,0625 DL <sub>50</sub>	0,85	34,35
C <sub>2</sub>	0,125 DL <sub>50</sub>	0,125 DL <sub>50</sub>	1,7	68,7
C <sub>3</sub>	0,5 DL <sub>50</sub>	0,5 DL <sub>50</sub>	3,4	137,4
C <sub>4</sub>	DL <sub>50</sub>	DL <sub>50</sub>	6,8	274,8
C <sub>5</sub>	2 DL <sub>50</sub>	2 DL <sub>50</sub>	13,6	549,6

FUENTE: Adaptado de Chen *et al.*, 2014.

### 3.6.5 SUELO AGRÍCOLA

Finalmente, se realizaron dos (02) ensayos con muestras de suelo agrícola. La primera muestra fue tomada inmediatamente después de la aplicación de los plaguicidas y la segunda muestra, a los cinco (05) días de la aplicación de los plaguicidas. El diseño de los ensayos se realizó como se muestra en la Tabla 22.

**Tabla 22: Diseño experimental – Suelo agrícola (Ensayo 5 y 6)**

Tratamiento	% SC	% SA	SC (g)	SA (g)
Control	0	100	0	200
C <sub>1</sub>	6,25	93,75	12,5	187,5
C <sub>2</sub>	12,5	87,5	25	175
C <sub>3</sub>	25	75	50	150
C <sub>4</sub>	50	50	100	100
C <sub>5</sub>	100	0	200	0
Total (por ensayo) (g)			387,5	812,5
Total (g)			1 550	3 250

FUENTE: Elaboración propia

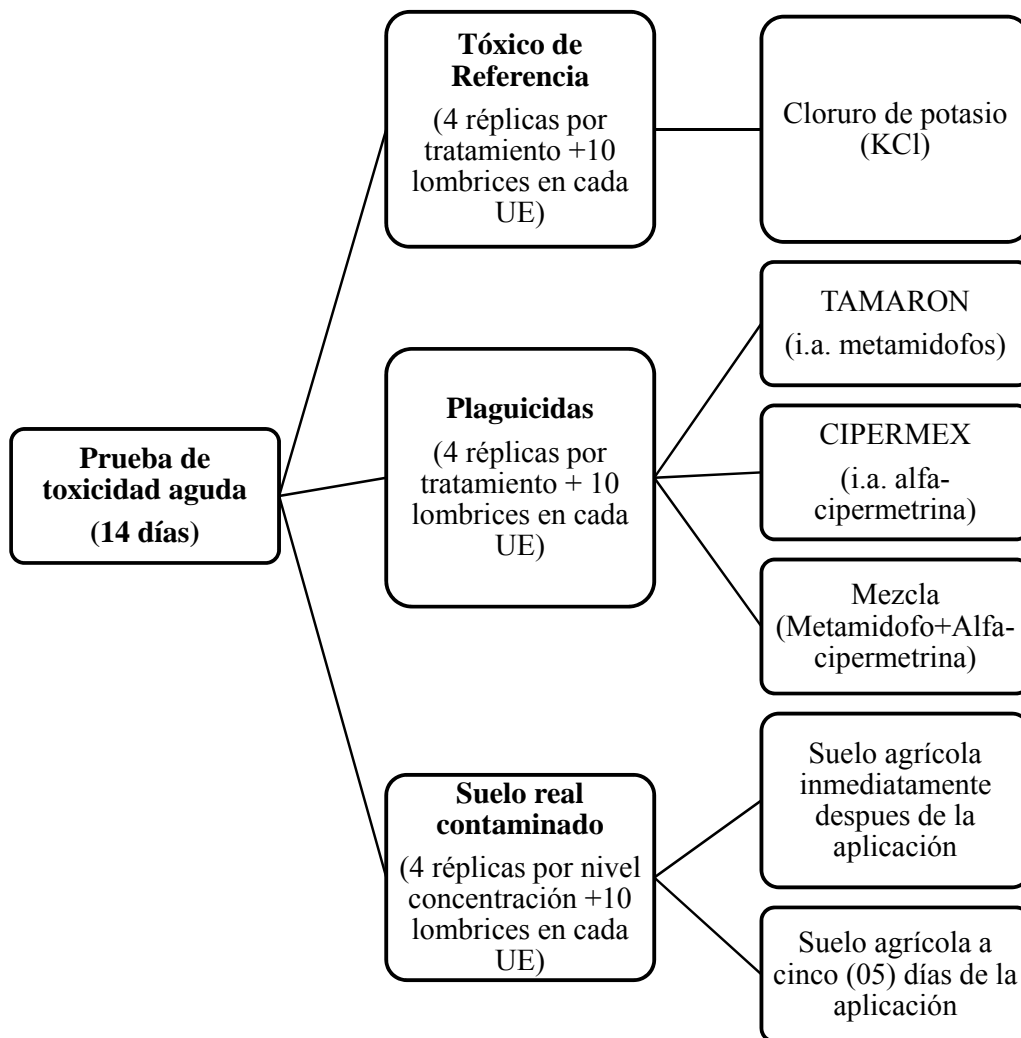
SA: suelo artificial

SC: suelo contaminado

### 3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS

Los resultados de los ensayos de toxicidad fueron analizados para evaluar su distribución normal (prueba Shapiro Wilk) y homogeneidad de varianzas (prueba Levene). Mientras que, el análisis de varianza de una vía o de un factor (ANOVA) fue usado para evaluar el efecto de los plaguicidas sobre la mortalidad y el peso. Asimismo, se aplicó las pruebas post-hoc (*a posteriori*) de Tukey y Dunnet para comparar las medias de las variables independientes (mortalidad y peso). Para aquellas variables no paramétricas se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. Todas las pruebas estadísticas fueron analizadas mediante el paquete estadístico IBM-SPSS versión 20.

La evaluación toxicológica de los plaguicidas con un organismo no destinatario *E. andrei* realizados fueron desarrollados según la Guía 207 (OECD, 1984). (Ver Figura 20)



**Figura 18: Diagrama de flujo de los ensayos de toxicidad aguda con *E. andrei***

FUENTE: Elaboración propia.

UE: Unidad experimental

### **3.8 DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL<sub>50</sub>) y DOSIS**

#### **EFFECTIVA MEDIA (DE<sub>50</sub>)**

Para el cálculo de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) y la dosis efectiva media (DE<sub>50</sub>), se utilizó el análisis de Probit a través del paquete de regresión Probit del software SPSS y lo propuesto por Finney (1952) para la determinación de los efectos letales y subletales de los plaguicidas sobre *E. andrei*. El modelo de regresión fue verificado usando el estadístico

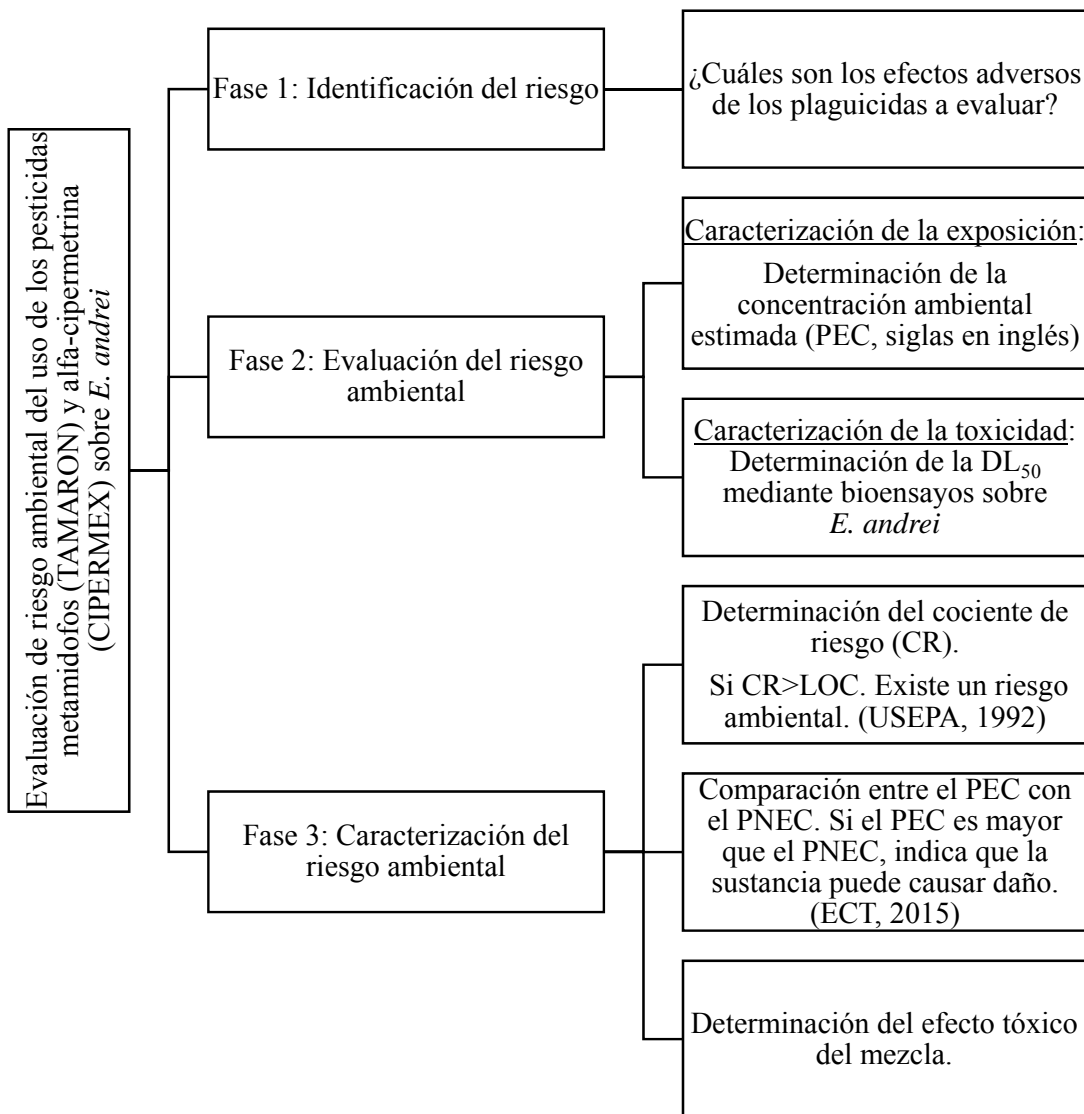


Chi-cuadrado. En el caso de muerte natural en el grupo control de menor al 20 %, los cálculos de la mortalidad fueron corregidos mediante la fórmula Schneider-Orelli's (Püntener, 1981) aplicado a poblaciones uniformes (una sola especie). A continuación, se presenta la ecuación de Schneider-Orelli's.

$$\text{Mortalidad corregida (\%)} = \frac{\text{mortalidad en el tratamiento (\%)} - \text{mortalidad en el control (\%)}}{100 - \text{mortalidad en el control (\%)}} \quad (1)$$

### **3.9 EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL**

La evaluación de riesgo ambiental (ERA) se realizó en base a lo establecido en la Guía para la Evaluación del Riesgo Ecológico (EPA, 1992) y lo propuesto por el *Edinburgh Centre for Toxicology* (ECT) en el módulo de entrenamiento de evaluación de riesgo ambiental (2015).



**Figura 19: Procedimiento de evaluación de riesgo ambiental**

FUENTE: Elaboración propia. Adaptado de la USEPA (1992) y de la ECT (2015)

CR=cociente de riesgo, LOC=nivel crítico, PEC=Concentración ambiental estimada,

PNEC=Concentración prevista sin efecto

Para determinar la existencia de riesgo ambiental de los pesticidas a evaluarse sobre el organismo *E. andrei*, indicador del ecosistema terrestre, se consideran los escenarios más críticos (mayor exposición) de los organismos de prueba (*E. andrei*).

### **3.9.1 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN AMBIENTAL ESTIMADA (PEC)**

Para el cálculo de la concentración ambiental estimada (PEC) se utilizó la calculadora PEC de la Agencia Finlandesa de Seguridad y Productos Químicos (Tukes), la cual predice concentraciones en la capa de suelo de 5 cm. La calculadora no tiene en cuenta la evaporación, la absorción de las plantas ni la filtración a capas de suelo más profundas, y por lo tanto representa la situación más crítica. Los datos de entrada para la calculadora son la vida media ( $DT_{50}$ ) y la dosis por hectárea del plaguicida.

En la presente investigación se calculó el PEC para tres (03) escenarios, simulando tres (03) aplicaciones del plaguicida sobre el cultivo de papa cada 15 días. Los supuestos para cada escenario se describen a continuación:

- **Escenario 1:** Considera la aplicación de la dosis recomendada sugerida en la etiqueta del plaguicida.
- **Escenario 2:** Considera la aplicación del doble de la dosis recomendada sugerida en la etiqueta del plaguicida.
- **Escenario 3:** Considera la aplicación del triple de la dosis recomendada sugerida en la etiqueta del plaguicida.

Los datos considerados en la calculadora PEC se presentan en la Tabla 23.

**Tabla 23: Datos considerados para el cálculo del PEC**

Nombre comercial	Ingrediente activo (i.a.)	Concentración de ingrediente activo (g·L <sup>-1</sup> )	Tasa de aplicación (g·ha <sup>-1</sup> )			DT <sub>50</sub>	Número de aplicaciones	Densidad del suelo (g·cm <sup>3</sup> )
			Escenario1	Escenario 2	Escenario 3			
MATADOR® 600 SL	Metamidofos	600	1 200	2 400	3 600	4	3/c 15 días	1,5
CIPERMEX® SUPER 10 CE	Alfa-cipermetrina	10	5	10	15	35	3 /c 15 días	1,5

FUENTE: Elaboración propia

Escenario 1= tasa de aplicación igual a la dosis recomendada, Escenario 2= tasa de aplicación al doble de la dosis recomendada, Escenario 3=tasa de aplicación al triple de la dosis recomendada, DT<sub>50</sub>=Tiempo de vida media

### 3.9.2 CARACTERIZACIÓN DEL RIESGO

La caracterización del riesgo se determinó a través de los siguientes criterios establecidos por USEPA (1992) y la ECT (2015):

- Relación entre la  $DL_{50}$  y PEC y su comparación con el nivel de preocupación (LOC).
- Relación entre la  $DL_{50}$  y la concentración prevista sin efecto (PNEC, por sus siglas en inglés).

El cálculo del cociente de riesgo (CR) se realizó con la siguiente ecuación:

$$CR = \frac{\text{Concentración ambiental estimada (PEC}_{\text{suelo}})}{\text{Toxicidad aguda (DL}_{50})} \quad (2)$$

Los valores obtenidos de CR se compararon con el nivel crítico respectivo (LOC), de acuerdo a lo propuesto por la EPA. Se usó el valor de 0,5 para la toxicidad aguda con organismos no destinatarios y de 1 para la toxicidad subaguda. Si  $CR > LOC$  existe un riesgo ambiental.

Asimismo, se determinó la concentración prevista sin efecto (PNEC). Se utilizó la siguiente fórmula:

$$PNEC = \frac{\text{Toxicidad aguda (DL}_{50})}{\text{Factor de seguridad}} \quad (3)$$

Siendo el factor de seguridad o de evaluación igual a 1 000. Este último valor es utilizado para datos de toxicidad aguda en base a la  $DL_{50}$  para una sola especie ensayada (ECT, 2015) y determinar los niveles de seguridad que puede tolerarse de una sustancia química sintética o natural en la matriz suelo, sin producir efectos adversos en los organismos del ecosistema terrestre. Si el PEC es mayor que el PNEC, indica que la sustancia puede causar daño.

### 3.9.3 DETERMINACIÓN DEL EFECTO TÓXICO DE LA MEZCLA

Las unidades tóxicas (UT) son una figura adimensional, calculada como la relación entre el nivel de exposición (PEC) y un punto final agudo o crónico dado (DL<sub>50</sub>, NOEC, LOEC). Las unidades tóxicas para la mezcla (*UT*<sub>mezcla</sub>) se calcularon como la suma de UT individuales de los dos (02) plaguicidas evaluados utilizando la siguiente ecuación (Marking, 1977):

$$UT_{mezcla} = \frac{DL_{50} \text{ o NOEC o LOEC } 1 \text{ (mezcla)}}{DL_{50} \text{ o NOEC o LOEC } 1 \text{ (individual)}} + \frac{DL_{50} \text{ o NOEC o LOEC } 2 \text{ (mezcla)}}{DL_{50} \text{ o NOEC o LOEC } 2 \text{ (individual)}} \quad (4)$$

*Donde:*

*UT: Unidad tóxicas*

*DL<sub>50</sub>: Dosis letal media*

*NOEC: Concentración de efecto no observado*

*LOEC: Concentración más baja donde se observa efecto*

Un valor de UT mayor a 1 (>1) indica un comportamiento antagónico y menor a 1 (<1) indica un comportamiento sinérgico.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 CARÁCTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS SUELOS**

#### **4.1.1 SUELO ARTIFICIAL**

En la Tabla 24 se muestra los resultados de las propiedades fisicoquímicas reportados por el laboratorio. El pH de suelo artificial fue de 7,57 unidades considerándose ligeramente alcalino, por su conductividad ( $2,58 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ) se caracteriza como ligeramente salino y por su porcentaje de materia orgánica (5,2 %) se clasifica como alto.

**Tabla 24: Propiedades fisicoquímicas del suelo artificial**

<b>Parámetro</b>	<b>Resultados</b>
pH (1:1)	7,57
Conductividad eléctrica (dS·m <sup>-1</sup> )	2,58
CaCO <sub>3</sub>	0,6
Materia orgánica (%)	5,2
Fósforo (ppm)	11,3
Potasio (ppm)	398
Arena (%)	72
Limo (%)	18
Arcilla (%)	10
Clase textural	Franco arenoso (Fr.A)
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	9,6
Cationes cambiables	
Ca <sup>+2</sup>	6,96
Mg <sup>+2</sup>	1,03
K <sup>+</sup>	0,72
Na <sup>+</sup>	0,88
Al <sup>+3</sup> +H <sup>+</sup>	0
Suma de cationes	9,6
Suma de bases	9,6
% de saturación de bases	100

FUENTE: Laboratorio de análisis de suelos, plantas, aguas y fertilizantes- Departamento de Suelos (Universidad Nacional Agraria la Molina)

#### **4.1.2 SUELO AGRÍCOLA**

En la Tabla 25 se muestra los resultados de las propiedades fisicoquímicas del suelo agrícola reportados por el laboratorio. El pH del suelo agrícola fue de 7,65, caracterizándose como ligeramente alcalino, el valor de conductividad fue de 1,28 dS·m<sup>-1</sup> considerándose como muy ligeramente salino y el valor de contenido de materia orgánica fue de 1,46 % se clasifica como bajo.



**Tabla 25: Propiedades fisicoquímicas del suelo agrícola**

<b>Parámetro</b>	<b>Resultados</b>
pH (1:1)	7,65
Conductividad eléctrica (dS·m <sup>-1</sup> )	1,28
CaCO <sub>3</sub>	7,2
Materia orgánica (%)	1,46
Fósforo (ppm)	50,4
Potasio (ppm)	478
Arena (%)	62
Limo (%)	22
Arcilla (%)	16
Clase textural	Franco arenoso (Fr.A)
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	9,6
Cationes cambiables	
Ca <sup>+2</sup>	7,49
Mg <sup>+2</sup>	2,63
K <sup>+</sup>	1,01
Na <sup>+</sup>	0,39
Al <sup>+3</sup> +H <sup>+</sup>	0
Suma de cationes	11,52
Suma de bases	11,52
% de saturación de bases	100

FUENTE: Laboratorio de análisis de suelos, plantas, aguas y fertilizantes- Departamento de Suelos (Universidad Nacional Agraria la Molina)

Asimismo, el suelo agrícola se analizó por Cromatografía de Gases/Espectrometría Masa de la USEPA (EPA 8 270 Rev. 4 2007) para determinar la concentración de pesticidas presentes. En la Tabla 26 se muestra los resultados.

**Tabla 26: Resultados de concentración de plaguicidas**

Compuesto	Grupo químico	Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )		
		Suelo "A"	Suelo "B"	
Alacloro	Acetamida	< 0,004	< 0,004	
Clortal Dimetil	Ácido bencenodicarboxílico	< 0,005	< 0,005	
Benalaxil (SP)	Acilaminoácido	< 0,013	< 0,013	
Pirimetanil	Anilino pirimidinas	< 0,006	< 0,006	
Propizamida	Benzamida	< 0,010	< 0,010	
Diflufenicán	Carboxamida	< 0,011	< 0,011	
Pentaclorobenceno	Clorobenceno	< 0,005	< 0,005	
Oxifluorfén	Difenil éter	< 0,012	< 0,012	
Tetradifón	Difenilo	< 0,025	< 0,025	
Pendimetalina	Dinitroanilina	< 0,010	< 0,010	
Metalaxil (SP)	Fenilamida	< 0,013	< 0,013	
Dieldrin (SP)	Hidrocarburo clorado	< 0,005	< 0,005	
Hexaclorobenceno		< 0,011	< 0,011	
Alfa-HCH		< 0,005	< 0,005	
Beta-HCH		< 0,005	< 0,005	
Clordano Cis		< 0,005	< 0,005	
Clordano Trans		< 0,005	< 0,005	
Delta-HCH		< 0,005	< 0,005	
Endosulfan Alfa		< 0,005	< 0,005	
Endosulfan Beta		< 0,005	< 0,005	
Endosulfan Sulfato		< 0,005	< 0,005	
Endrin		< 0,005	< 0,005	
Endrin Aldehído		Organoclorado	< 0,005	< 0,005
Endrin Cetona		< 0,005	< 0,005	
Heptacloro (SP)	< 0,005	< 0,005		
Heptacloro Epóxido (SP)	< 0,005	< 0,005		
Lindano	< 0,004	< 0,004		
Metoxicloro	< 0,005	< 0,005		
Mirex	< 0,035	< 0,035		
o,p-DDT	< 0,010	< 0,010		
p,p-DDD	< 0,005	< 0,005		
p,p-DDE	< 0,005	< 0,005		
p,p-DDT	<b>0,007</b>	<b>0,006</b>		
Clorfenvinfós	< 0,009	< 0,009		
Clorpirifos	<b>0,011</b>	<b>0,008</b>		
Diclorvos	Organofosforado	< 0,018	< 0,018	
Dimetoato (SP)		< 0,005	< 0,005	
Etion		< 0,017	< 0,017	
Etoprofos		< 0,005	< 0,005	
Fenamifos (SP)		< 0,018	< 0,018	

«continuación»

Compuesto	Grupo químico	Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )	
		Suelo "A"	Suelo "B"
Malation (SP)		< 0,014	< 0,014
Metamidofos		< 0,073	< 0,073
Metidatión	Organofosforado	< 0,017	< 0,017
Paration Etil		< 0,007	< 0,007
Paration Metil (SP)		< 0,010	< 0,010
Triclorfon		< 0,018	< 0,018
Vinclozolina (SP)	Oxazol	< 0,010	< 0,010
Cipermetrina	Piretroide	< 0,077	< 0,077
Piridabén	Piridazinona	< 0,016	< 0,016
EPTC	Tiocarbamato	< 0,005	< 0,005
Molinato		< 0,114	< 0,114
Ametrina		< 0,014	< 0,014
Atrazina		< 0,010	< 0,010
Prometrina	Triazina	< 0,016	< 0,016
Simazina		< 0,005	< 0,005
Terbutilazina		< 0,060	< 0,060
Terbutrin		< 0,019	< 0,019
Metribuzina	Triazinona	<b>0,013</b>	< 0,009
Ciproconazol	Triazol	< 0,007	< 0,007
Flusilazol		< 0,008	< 0,008
Miclobutanil		< 0,018	< 0,018

FUENTE: Laboratorio AGQ (2017)

Suelo A= Tomado inmediatamente después de la aplicación, Suelo B= Tomado cinco días después de la aplicación

Valores en negrita representan presencia del plaguicida en la muestra del suelo

Del cuadro anterior se observa que la muestra para la mayoría de pesticidas e inclusive los evaluados en la presente investigación, se encuentran por debajo del límite de detección. Sin embargo, se observaron valores para otros pesticidas como clorpirifos, y p,p-DDT para el suelo agrícola "A" y "B", y metribuzina únicamente en el suelo "A".

#### 4.2 ENSAYO DE TOXICIDAD DEL TÓXICO DE REFERENCIA

El ensayo de KCl demostró 100 % de mortalidad en todos los niveles de tratamiento propuestos y 0 % en los controles, siendo válido de esta manera el ensayo (mínimo de 10 % de mortalidad en los controles). Según lo mencionado, se concluye que la lombriz *E. andrei* es sensible al tóxico de referencia propuesto.

### **4.3 ENSAYO DE TOXICIDAD INDIVIDUAL DE PLAGUICIDAS**

Se calcularon los valores de  $DL_{50}$  usando dos (02) métodos, mediante el paquete SPSS y por el propuesto por Finney (1952). Los valores de  $DL_{50}$  generados por el paquete SPSS fueron menores que los obtenidos por la hoja de cálculo de Finney (1952). La diferencia entre ambos métodos se debe a que el paquete SPSS considera todos los valores de cada unidad experimental, mientras que el método de Finney (1952) contempla valores promedio de cada nivel de tratamiento.

#### **4.3.1 METAMIDOFOS**

En la Tabla 27 se muestra los resultados del efecto del metamidofos en la mortalidad de *E. andrei*, encontrándose un valor de  $DL_{50}$  de  $3,19 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (SPSS) y  $6,87 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Finney, 1952) para el periodo de exposición de 14 días. Asimismo, se calcularon los valores de NOEC ( $5_{7d}$  y  $1_{14d}$ ) y LOEC ( $15_{7d}$  y  $1_{14d}$ ). Con respecto al análisis estadístico, para la variable mortalidad (%), se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (prueba no paramétrica), encontrándose una relación significativa entre el nivel de tratamiento y el porcentaje de mortalidad ( $p\text{-valor} < 0,05$ ).

**Tabla 27: Efecto de metamidofos en la mortalidad (%) de *E. andrei***

Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )	Mortalidad (%)	
	7 d	14 d
Control	0a	0a <sup>(1)</sup>
1	0a	28,95ab
5	0a	55,26bc
15	2,5ab	86,84cd
35	22,5b	100d
65	57,5c	100d
<i>Kruskal-Wallis</i> (H)	21,077	20,744
p-valor (sig.)	0,01	0,01
Parámetros toxicológicos		
NOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	5	1
LOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	15	1
Probit (SPSS)		
DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	57,67	3,19
LC Inferior (95 %)	39,73	1,55
LC Superior (95 %)	83,72	6,59
Probit (Finney, 1952)		
DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	57,50	6,87
LC Inferior (95 %)	42,29	2,56
LC Superior (95 %)	81,21	10,49

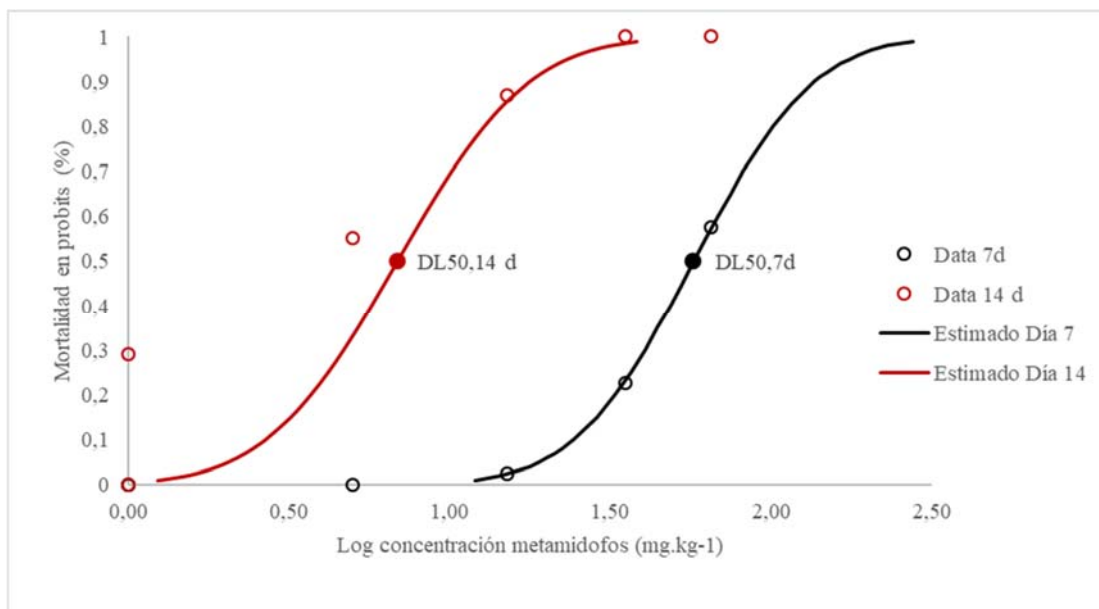
FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

<sup>(1)</sup> Mortalidad corregida (Schneider-Orelli's)

*Kruskal-Wallis*=Prueba no paramétrica, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, LC= límite de confianza.

En la Figura 20 se presenta la curva dosis-respuesta para los efectos sobre la mortalidad del metamidofos, para los periodos de exposición de 7 y 14 días, observándose una relación dosis-respuesta positiva entre la mortalidad de lombrices y el nivel de tratamiento.



**Figura 20: Curva dosis respuesta (mortalidad) – Metamidofos (OECD/Suelo artificial) en *E. andrei*.**

FUENTE: Elaboración propia

Se encontraron resultados similares y/o dentro del rango reportado en estudios anteriores, Iannacone *et al.* (2008) obtuvieron un valor de  $DL_{50,14d} = 2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y Haque *et al.* (1984) registraron un valor de  $DL_{50,14d} = 17,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Sin embargo, Espinoza-Navarro, Ferreira y Bustos-Obregón (2013) encontró un valor de  $DL_{50}$  ( $85,34 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) sobre *E. fetida* y Liang y Zhou (2003) obtuvieron un valor de  $DL_{50}$  de  $52,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  sobre *Eisenia foetida*, siendo estos valores mayores a los registrados en la presente investigación, del cual se desprende que la especie de lombriz *E. andrei* es más sensible a la exposición de metamidofos que la especie *E. fetida*. Similar conclusión fue reportada por García-Santos y Keller-Forrer (2011) ante pruebas de evasión de metamidofos sobre *E. fetida* para las cuales indicaron mayores valores en comparación a los valores de pruebas de evasión reportados por De Silva y Van Gestel (2009) de la exposición sobre *E. andrei*.

Asimismo, se observa que la mortalidad de *E. andrei* tratada con metamidofos se incrementó a mayor periodo de exposición, tal como se muestra en la Figura 20. Zhou, Zhang y Liang (2006) reportaron resultados similares al exponer *E. fetida* con metamidofos a diferentes periodos de exposición (6, 12 y 18 días).

De acuerdo a la literatura, el metamidofos actúa como inhibidor de la enzima acetilcolinestasa (AChE) (Stenersen, 2004; Reinecke, 2007; Sánchez-Hernández *et al.*, 2018), causando efectos significativos (mortalidad) a organismos no objetivo (not target; término en inglés), incluyendo seres humanos, otros vertebrados e invertebrados, resultando en serios impactos (Díaz, 2012 y Yadav *et al.*, 2017). Estudios anteriores han registrado este efecto, Sanyal, Kaviraj y Pratim Chakravorty (2017) reportó una reducción de la actividad de la enzima AChE sobre la lombriz epigeica *Perionyx excavatus* a mayores dosis de dimetoato (organofosforado); así como Booth, Hodge y O'Halloran (2001) registró el mismo efecto sobre la enzima AChE a mayores dosis de clorpirifos (organofosforado).

En la Tabla 28 se presentan los resultados del efecto subletal de metamidofos con respecto al punto final de peso (mg) reportándose un valor de DE<sub>50</sub> a 14 días de exposición de 36,07 mg·kg<sup>-1</sup> (SPSS) y 9,71 mg·kg<sup>-1</sup> (Finney, 1952). Se aprecia una tendencia en la reducción de peso, a medida que aumenta la concentración de plaguicida.

En relación al análisis estadístico para la variable peso, al realizar la prueba de ANOVA se encontró una relación significativa entre el peso y el nivel de tratamiento (p-valor<0,05) y se calculó los valores de NOEC y LOEC, tal como se muestra en la Tabla 28.

**Tabla 28: Efectos de metamidofos en el peso (mg) de *E. andrei***

Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )	Peso (mg)	
	7 d	14 d
Control	364a	327a
1	356a	254ab
5	329a	179bc
15	282b	207b
35	219b	99cd
65	206c	51d
Shapiro-Wilk	0,95	0,395
Sig. (p>0,05)	0,275	0,218
Levene	1,253	1,387
Sig. (p>0,05)	0,326	0,276
F	22,243	31,348
Sig. (p<0,05)	0	0
Parámetros toxicológicos		
NOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	5	1
LOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	15	5
	Probit (SPSS)	
DE <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	104,69	36,07
LC Inferior (95 %)	65,02	22,89
LC Superior (95 %)	295,96	47,14
	Probit (Finney, 1952)	
DE <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	76,37	9,71
LC Inferior (95 %)	31,76	3,74
LC Superior (95 %)	183,67	25,23

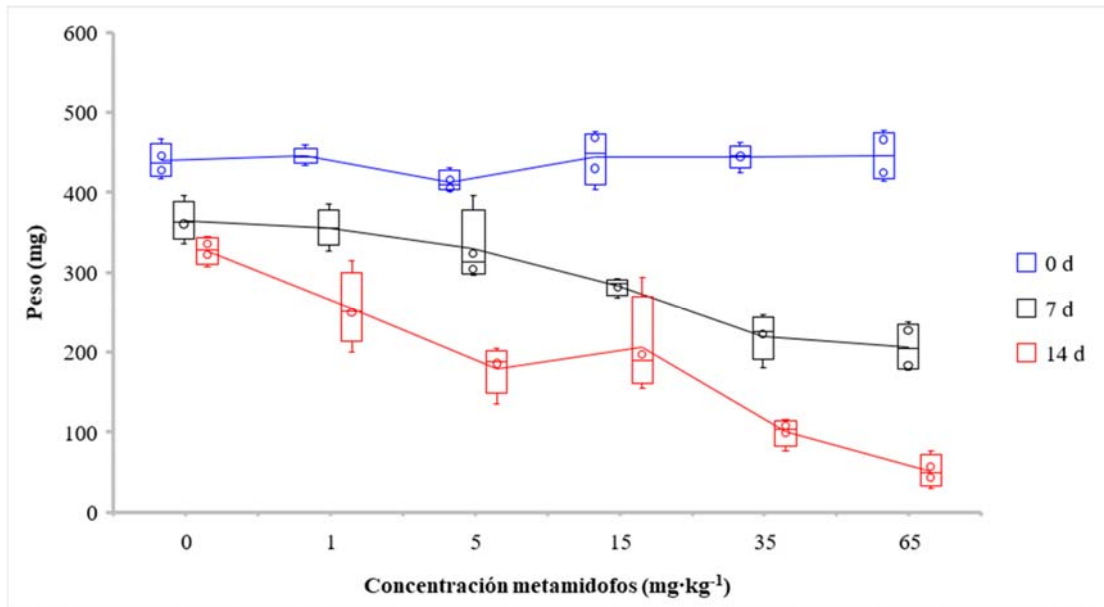
FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

Shapiro-Wilk= Test de normalidad, Levene= Test de homogeneidad de varianzas, F= estadístico ANOVA, DE<sub>50</sub>= dosis efectiva media, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, LC= límite de confianza.

En la Figura 21 se muestran los intervalos de registros obtenidos para el efecto subletal peso, en la cual se evidencia una reducción significativa de peso al máximo nivel de concentración (65 mg·kg<sup>-1</sup>) en comparación a la disminución en el peso del control.





**Figura 21: Variación del peso de *E. andrei* a los día 0, día 7 y día 14 por acción del Metamidofos**

FUENTE: Elaboración propia

Por otro lado, cualitativamente se observó un comportamiento de enroscamiento, tal como se muestra en la Figura 22, después los 7 días de exposición.



**Figura 22: Comportamiento de enroscamiento corporal de *E. andrei* ante la exposición de metamidofos, después de 7 días de exposición. Control (Izquierda) y Tratamiento C<sub>3</sub> (derecha)**

FUENTE: Elaboración propia

Tal como se muestra en la Figura 21 se registró una reducción en el peso corporal de *E. andrei*, aumentando significativamente en el nivel de mayor tratamiento. Este efecto se explica, dado que específicamente para el metamidofos se registró un comportamiento de enroscamiento o enrollamiento, tal como se muestra en la Figura 22, evidenciando un daño nervioso y neuromuscular. Este comportamiento influye en el desplazamiento de la lombriz hacia el alimento, y por ende resulta una reducción de peso. Similar comportamiento lo observaron Espinoza-Navarro y Bustos-Obregón (2015), que registraron la contracción corporal característica de cola enrollada al exponer a *E. fetida* con compuestos organofosforados como malation y metamidofos.

En comparación de ambos puntos finales, se observa que la variación de peso es más sensible en el diagnóstico de efectos tóxicos, particularmente cuando la concentración de metamidofos en el suelo fue más baja y el tiempo de exposición fue más corto, tal como lo reportado por Zhou *et al.* (2006) en la exposición de metamidofos y acetoclor sobre *E. fetida*.

En relación a otros organismos típicos del entorno terrestre, se reportaron efectos adversos del metamidofos. Mendez *et al.* (2008) registró afectación en la alimentación de la especie *Castella sp* para una concentración de metamidofos entre 0,008 a 0,26 mg·g<sup>-1</sup>, Li *et al.* (2008) reportó incremento de población de hongos patogénicos a una concentración de metamidofos de 250 mg·kg<sup>-1</sup>, Wang *et al.* (2008), reportó reducción de biomasa y disminución de diversidad genética sobre comunidades microbianas del suelo a una concentración de metamidofos entre 2,38 a 23,8 mg·kg<sup>-1</sup> y Su *et al.* (2007) registró la afectación de genes funcionales sobre microorganismos del suelo a una concentración de metamidofos de 150 a 250 mg·kg<sup>-1</sup>. Sin embargo, existen otros organismos que generan resistencia al metamidofos como el ácaro (*Tetranychus urticae*), que posee mutaciones en genes que codifican la enzima AChE, lo que confiere resistencia a plaguicidas organofosforados (Khajehali *et al.*, 2010; Kwon *et al.*, 2010).

En comparación al alfa-cipermetrina, el metamidofos mostró valores más tóxicos sobre *E. andrei*. Según la literatura, los organofosforados demostraron ser más tóxicos que los piretroides. (Longley 1999 citado por Stanley, 2016). La alta solubilidad en agua que tiene el metamidofos en comparación con el alfa-cipermetrina, explica su mayor toxicidad

(Andre y Picú, 2004), a pesar de que la vida media de alfa-cipermetrina (35 días) es mayor a la del metamidofos (4 días).

#### **4.3.2 ALFA-CIPERMETRINA**

Para el ensayo individual con alfa-cipermetrina, el valor estimado de  $DL_{50}$  a 14 días de exposición es de  $274,82 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (SPSS) y  $428,28 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Finney, 1952). A partir de los 7 días de exposición se observó una tasa de mortalidad de 100 % en el nivel de concentración de  $1\ 000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $2\ 000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . (Tabla 29).

Con respecto al análisis estadístico, para la variable mortalidad (%), se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (prueba no paramétrica), encontrándose una relación significativa entre el nivel de tratamiento y el porcentaje de mortalidad ( $p\text{-valor}<0,05$ ). (Tabla 29)

**Tabla 29: Efecto de alfa-cipermetrina en la mortalidad (%) de *E. andrei***

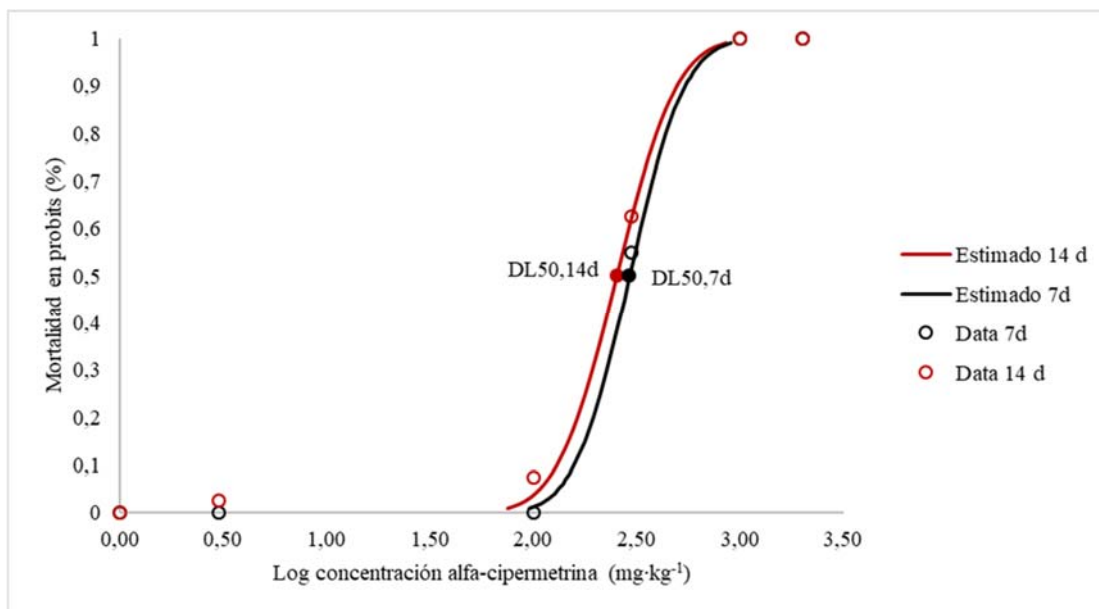
Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )	Mortalidad (%)	
	7 d	14 d
Control	0a	0a
3	0a	2,5a
100	0a	7,5a
300	55b	62,5b
1000	100b	100b
2000	100b	100b
Kruskal-Wallis (H)	20,260	20,258
Parámetros toxicológicos		
NOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	100	100
LOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	300	300
	Probit (SPSS)	
DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	293,17	274,82
LC Inferior (95 %)	203,05	110,986
LC Superior (95 %)	448,08	364,769
	Probit (Finney, 1952)	
DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	227,31	428,28
LC Inferior (95 %)	93,30	163,39
LC Superior (95 %)	553,84	1 122,64

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

Kruskal-Wallis=Prueba no paramétrica, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, LC= límite de confianza.

En la Figura 23 se presenta la curva dosis-respuesta para el efecto del alfa-cipermetrina sobre *E. andrei*., observándose una curva dosis-respuesta positiva y el valor de DL<sub>50</sub>, no varía significativamente con respecto del periodo de exposición.



**Figura 23: Curva dosis-respuesta (mortalidad) - Alfa-cipermetrina (OECD/Suelo artificial) en *E. andrei*.**

FUENTE: Elaboración propia

Estos resultados coinciden con los reportados por Inglesfield (1984) que obtuvo una  $DL_{50,14d}$  superior a  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y un valor de NOEC de  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  para la exposición de alfa-cipermetrina sobre *E. fetida* y Arrázola (2016) determinó un valor de  $DL_{50,14d}$  de  $341,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y un valor de NOEC de  $75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Sin embargo, Hartnik *et al.* (2008) obtuvo un valor de  $DL_{50,14d}$  de  $762 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , tres (03) veces mayor al reportado en la presente investigación, al exponer alfa-cipermetrina sobre *E. fetida*, la diferencia se encuentra en el tipo de alfa-cipermetrina aplicada. En la presente investigación se utilizó un compuesto formulado comercial y Hartnik *et al.* (2008), utilizó un compuesto de alta pureza (97,6 %). Es importante indicar que el tipo de formulación utilizada en la presente investigación simula condiciones más reales de campo. Dado que los compuestos formulados contienen surfactante para fijación del producto, este ejerce un efecto sinérgico (Cedergreen, 2014), explicando de esta manera la mayor toxicidad del compuesto formulado que del compuesto puro.

En la Tabla 30, se muestra el peso promedio para cada nivel de tratamiento y periodo de exposición (7 y 14 días). El valor estimado de  $DE_{50}$  a 14 días de exposición es de  $654,40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (SPSS) y  $680,47 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Finney, 1952), apreciándose una tendencia de disminución de peso conforme la concentración de plaguicida aumenta.

Se calcularon los parámetros toxicológicos de NOEC, encontrándose valores de 100 mg·kg<sup>-1</sup> para los 7 y 14 días y un valor de LOEC de 300 mg·kg<sup>-1</sup> para los 7 y 14 días. En relación al análisis estadístico para la variable peso, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis encontrándose una relación significativa entre el nivel de tratamiento y el porcentaje de mortalidad (p-valor<0,05).

**Tabla 30: Efecto de alfa-cipermetrina en el peso (mg) de *E. andrei***

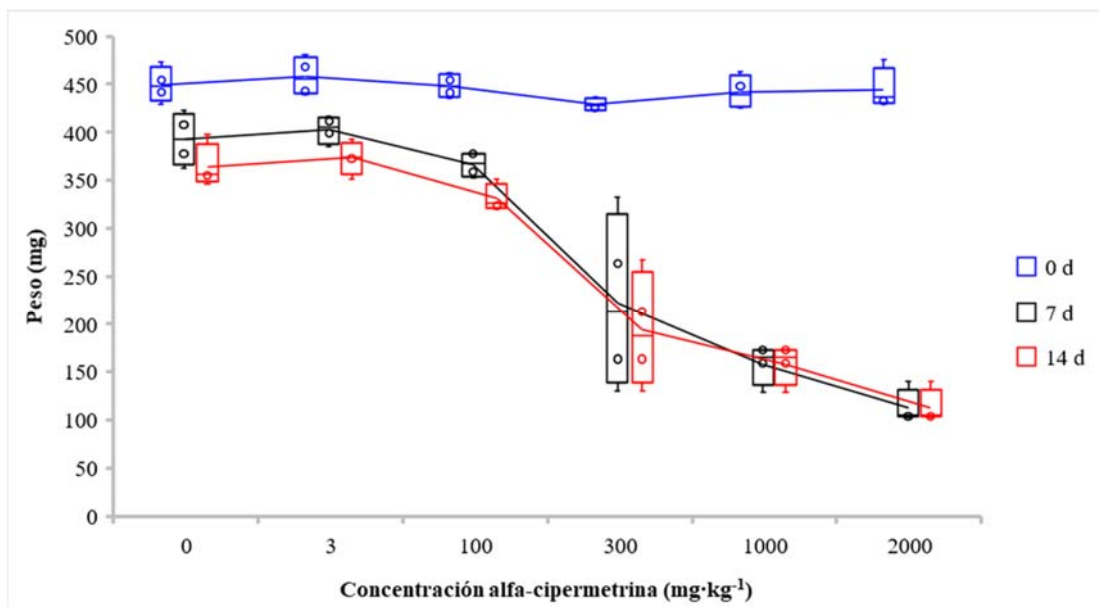
Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )	Peso (mg)	
	7 d	14 d
Control	392a	366a
3	401a	375a
100	367a	331a
300	222b	120b
1000	158bc	158bc
2000	113c	113c
Kruskal-Wallis (H)	20,610	20,476
Parámetros toxicológicos		
NOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	100	100
LOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	300	300
Probit SPSS		
DE <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	673,16	654,40
LC Inferior (95 %)	Nd	Nd
LC Superior (95%)	Nd	Nd
Probit Finney (1952)		
DE <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	680,52	680,47
LC Inferior (95 %)	353,68	325,47
LC Superior (95 %)	1 309,37	1 422,70

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (p <0,05).

Shapiro-Wilk= Test de normalidad, Levene= Test de homogeneidad de varianzas, DE<sub>50</sub>= dosis efectiva media, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, Nd: no determinado, LC= límite de confianza.

La Figura 24 ilustra los intervalos de los registros obtenidos para el efecto subletal peso para cada nivel de tratamiento y periodo de exposición. De esta figura se desprende y se observa claramente una reducción significativa a medida que la concentración de tratamiento y periodo de exposición aumenta. Además, se observa que no existe una diferencia significativa entre las respuestas de los periodos de exposición.



**Figura 24: Variación del peso de *E. andrei* a los día 0, día 7 y día 14 – Alfa-cipermetrina**

FUENTE: Elaboración propia

En relación al efecto tóxico subletal, se reportó una reducción significativa de peso corporal de *E. andrei* (ver Figura 24); sin embargo, no existe una diferencia significativa de reducción de peso entre los periodos exposición de 7 y 14 días, encontrándose un  $DE_{50,14d}$  de  $654,4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Esto resultados concuerdan con los obtenidos por Sechi *et al.* (2014).

Las especies epigénicas de lombrices de tierra (*E. andrei*/*E. fetida*) se alimentan de la materia orgánica de la superficie de suelo y no ingieren el suelo (Lavelle 1998 Citado por Buch *et al.*, 2013), por otro lado, es conocido que el alfa-cipermetrina se absorbe fuertemente en el suelo orgánico (Maud *et al.*, 2002 citado por Hartnik *et al.*, 2008), siendo de esta manera que la lombriz de tierra no solo está en contacto con el plaguicida vía dérmica sino a través de su alimentación. Asimismo, los piretroides tienen una alta actividad insecticida a través del contacto y las acciones estomacales. (Bloomquist, 1996 citado por Wang *et al.*, 2012)

En cuanto al tipo de prueba desarrollada en la presente investigación, según la literatura, Wang *et al.* (2012), demostró que la toxicidad de los piretroides en *E. foetida* es más baja

en la prueba de suelo artificial, en comparación de pruebas de toxicidad por contacto en *E. foetida*, indicando que los piretroides son más fáciles de ser absorbidos por la piel que por el intestino.

El mecanismo de acción de los piretroides sobre los organismos está dado por la inhibición del cierre apropiado de los canales de sodio ( $\text{Na}^+$ ). Los piretroides prolongan el período de apertura de los canales de sodio. La apertura y el cierre deberían normalmente ocurrir en menos de un milisegundo cuando pasa un impulso. Sin embargo, cuando es envenenado por un piretroide, el cierre se retrasa y se filtra el sodio cuando el canal debe estar cerrado produciendo trenes de falsos impulsos (temblores) (Stenersen, 2004). Este comportamiento fue observado durante el desarrollo de los ensayos.

Muangphra *et al.* (2013) observaron que el piretroide (cipermetrina comercial) es genotóxico en lombrices. Los mecanismos responsables de la genotoxicidad de la cipermetrina en los animales son durante el metabolismo a través de la escisión del éster hidrolítico y las vías oxidativas por las enzimas del citocromo P-450. La cipermetrina se metaboliza a cianhidrinas y además a cianuros, aldehídos y otros que pueden inducir la producción de especies reactivas de oxígeno que causan estrés oxidativo. Se ha demostrado que un aumento en la especie de oxígeno reactivo/peroxidación lipídica mediada por radicales libres y una mayor concentración de calcio citosólico (que ocurre debido al efecto directo de los piretroides en el canal de calcio) es responsable de la citotoxicidad y genotoxicidad en vertebrados durante la exposición a piretroides (Singh *et al.*, 2012 citado por Muangphra *et al.*, 2013).

#### **4.4 ENSAYO DE TOXICIDAD DE LA MEZCLA**

En la Tabla 31 se presentan los resultados del porcentaje de mortalidad del ensayo de toxicidad mixta de los pesticidas evaluados individualmente. Se observa una correlación dosis-respuesta positiva desde el nivel más bajo de tratamiento. Con respecto al análisis estadístico, para la variable mortalidad (%), se realizó la prueba de Kruskal-Wallis (prueba no paramétrica), encontrándose una relación significativa entre el nivel de tratamiento y el porcentaje de mortalidad ( $p\text{-valor} < 0,05$ ).



**Tabla 31: Efecto de la exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina) en la mortalidad (%) de *E. andrei***

Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )		Mortalidad (%)	
Metamidofos	Alfa-cipermetrina	7 d	14 d
Control	Control	0a	0a
0,85	34,35	45b	52,5b
1,70	68,70	72,5bc	92,5c
3,40	137,40	100c	100c
6,80	274,80	100c	100c
13,60	549,60	100c	100c
Kruskal-Wallis (H)		20,848	18,61
Sig. (p<0,05)		0,002	0,01

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (p <0,05).

Kruskal-Wallis=Prueba no paramétrica.

En la Tabla 32 se muestra el efecto de la exposición mixta en relación al peso, mostrándose una disminución del peso promedio a medida que la concentración mixta de los plaguicidas aumenta. Con respecto al análisis estadístico, al realizarse la prueba ANOVA de la variable peso, se encontró una relación de dependencia entre el peso y el nivel de tratamiento.

**Tabla 32: Efecto de la exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina) en el peso (mg) de *E. andrei***

Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )		Peso húmedo (mg)	
Metamidofos	Alfa-cipermetrina	7 d	14 d
Control	Control	390a	306a
0,85	34,35	320b	284a
1,70	68,70	268c	259ab
3,40	137,40	239cd	239ab
6,80	274,80	215d	215bc
13,60	549,60	165e	165c
Shapiro-Wilk		0,9483	0,968
Sig. (p>0,05)		0,249	0,616
Levene		2,46	2,388
Sig. (p>0,05)		0,073	0,79
F		58,34	9,89
Sig. (p<0,05)		0	0

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

Shapiro-Wilk= Test de normalidad, Levene= Test de homogeneidad de varianzas, F= ANOVA.

Los parámetros toxicológicos de la exposición mixta estimados se resumen en la Tabla 33, encontrándose un valor de DL<sub>50,14d</sub> para el método probit SPSS de 1,17 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. metamidofos) y 37,01 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. alfa-cipermetrina), y para el método Finney (1952) se estimó un valor de DL<sub>50</sub> de 0,82 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. metamidofos) y 33,18 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. alfa-cipermetrina) para el periodo de exposición de 14 días. En relación al parámetro DE<sub>50</sub> se reportó para el método probit (SPSS) valores de 20,87 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. metamidofos) y 889,80 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. alfa-cipermetrina) y para el método Finney (1952) se estimó un valor de DE<sub>50</sub> de 17,25 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. metamidofos) y 704,03 mg·kg<sup>-1</sup> (i.a. alfa-cipermetrina) para el periodo de exposición de 14 días.

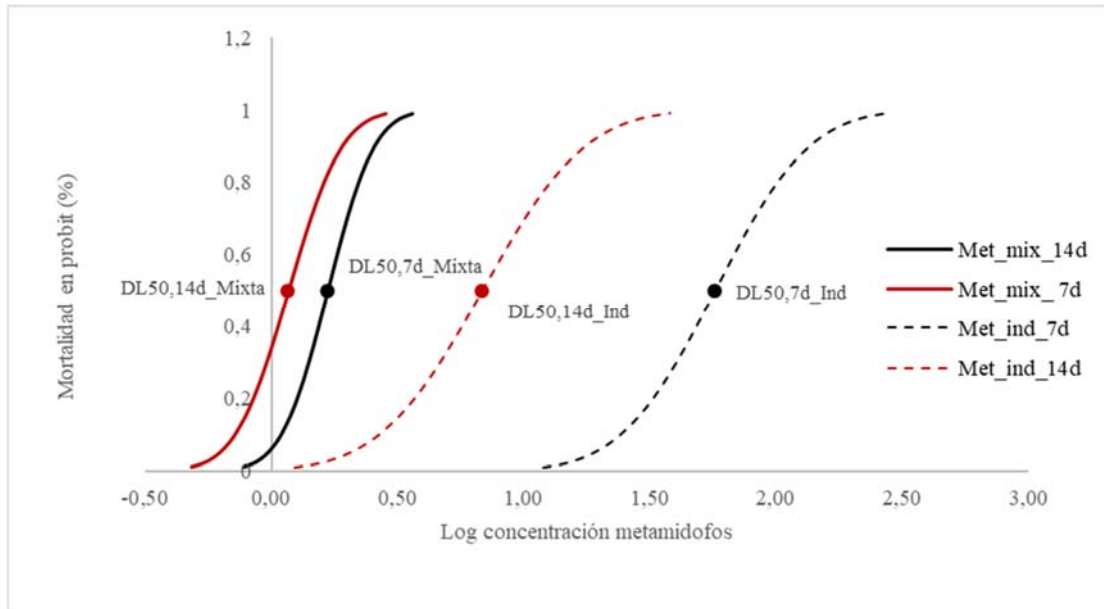
**Tabla 33: Parámetros toxicológicos de la exposición de mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina) de *E. andrei***

<b>Ingrediente activo (i.a.)</b>	<b>Parámetro</b>	<b>7d</b>	<b>14d</b>
Metamidofos	NOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	0,85	0,85
	LOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	1,7	1,7
Alfa-cipermetrina	NOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	34,35	34,35
	LOEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	68,7	68,7
<b>Probit (SPSS)</b>			
Metamidofos	DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	1,68	1,17
	LC Inferior (95 %)	Nd	Nd
	LC Superior (95 %)	Nd	Nd
	DE <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	8,26	20,87
	LC Inferior (95 %)	0,25	15,2
	LC Superior (95 %)	21,14	3 378,53
Alfa-cipermetrina	DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	59,94	37,01
	LC Inferior (95 %)	Nd	Nd
	LC Superior (95 %)	Nd	Nd
	DE <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	329,83	889,80
	LC Inferior (95 %)	2,151	601,70
	LC Superior (95 %)	872,24	8 914,08
<b>Probit (Finney, 1952)</b>			
Metamidofos	DL <sub>50</sub>	0,96	0,82
	LC Inferior (95 %)	0,61	0,59
	LC Superior (95 %)	1,52	1,14
	DE <sub>50</sub>	8,06	17,25
	LC Inferior (95 %)	3,09	7,80
	LC Superior (95 %)	20,98	38,14
Alfa-cipermetrina	DL <sub>50</sub>	38,75	33,18
	LC Inferior (95 %)	24,46	24,16
	LC Superior (95 %)	61,36	45,58
	DE <sub>50</sub>	327,80	704,03
	LC Inferior (95 %)	125,39	317,36
	LC Superior (95 %)	856,93	1 561,84

FUENTE: Elaboración propia

NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, DE<sub>50</sub>= dosis efectiva media, nd: no determinado, LC= límite de confianza.

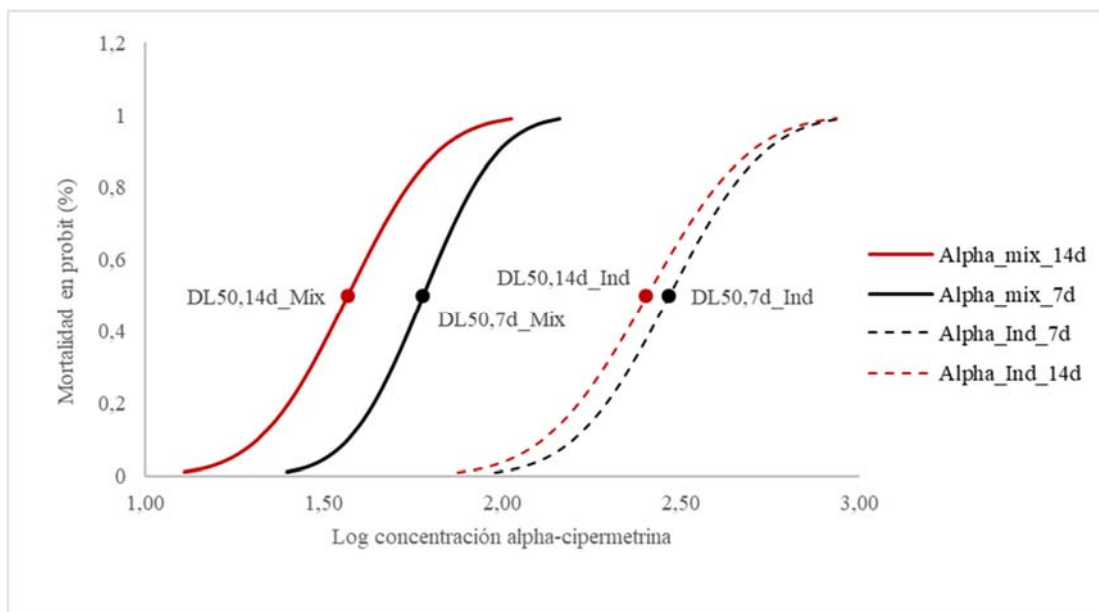
En la Figura 25 se muestra la curva dosis respuesta para la exposición mixta e individual del metamidofos se puede observar que la exposición mixta del metamidofos posee un mayor efecto (efecto sinérgico) sobre el organismo con respecto de la exposición individual.



**Figura 25: Curva dosis-respuesta (mortalidad) de la exposición mixta e individual del Metamidofos en *E. andrei*.**

FUENTE: Elaboración propia

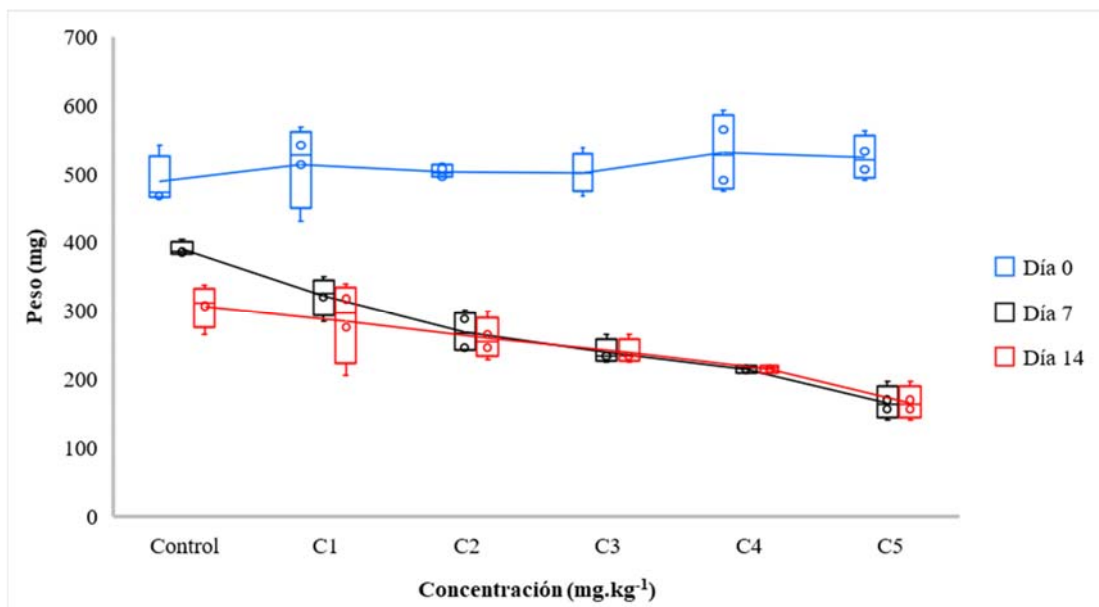
En la Figura 26 se presenta la curva dosis-respuesta de la exposición mixta e individual para alfa-cipermetrina, de la cual se puede apreciar que la exposición mixta del pesticida posee un efecto tóxico mayor que la exposición individual.



**Figura 26: Curva dosis – respuesta (mortalidad) – Exposición mixta e individual/Alfa-cipermetrina en *E. andrei*.**

FUENTE: Elaboración propia

La Figura 27 ilustra los intervalos de los registros obtenidos para el efecto subletal peso en cada nivel de tratamiento y periodo de exposición. Como se observa existe una reducción significativa a los 7 días de exposición; así como una disminución notable entre los niveles de tratamiento respecto de los controles. Además, se observa que no hay una diferencia significativa entre los periodos de exposición.



**Figura 27: Variación del peso de *E. andrei* a los día 0, día 7 y día 14 – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina)**

FUENTE: Elaboración propia

Los resultados de los parámetros toxicológicos (Tabla 33) para la exposición mixta son menores en comparación a los resultados de las pruebas de exposición individual.

En relación a cada uno de los parámetros toxicológicos estimados se calcularon las unidades tóxicas para determinar la condición o tipo de interacción (sinergia o antagonismo) entre los pesticidas (Marking, 1977). Tal como se muestra en la Tabla 34, para un periodo de exposición de 7 días se observa una condición de sinergia para todos los parámetros toxicológicos ( $DL_{50}$ ,  $DE_{50}$ , NOEC y LOEC) y para un periodo de exposición de 14 días se muestra una condición de sinergia únicamente para la  $DL_{50}$ . También se observa que los valores más bajos de unidades tóxicas (UT) se presentaron para la  $DL_{50}$  con valores de 0,23 y 0,31 para 7 y 14 días respectivamente.

**Tabla 34: Unidades tóxicas (UT) – Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina)**

Parámetro toxicológico	Día	DL <sub>50</sub>	DE <sub>50</sub>	NOEC	LOEC
Unidades tóxicas (UT)	7d	0,23	0,57	0,51	0,342
	14d	0,31	1,94	1,194	1,929
Condición	7d	Sinergismo	Sinergismo	Sinergismo	Sinergismo
	14d	Sinergismo	No sinérgico	No sinérgico	No sinérgico

FUENTE: Elaboración propia

NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, DE<sub>50</sub>= dosis efectiva media.

Valores en azul= UT>1 (No sinergismo), valores en rojo=UT<1 (Sinergismo).

En la Tabla 34 se observa que la interacción entre el metamidofos (organofosforado) y alfa-cipermetrina (piretroide) evidenció un efecto tóxico sinérgico en comparación con el efecto tóxico individual de la exposición sobre *E. andrei*. Evidentemente, la contaminación mixta tiene un efecto sinérgico sobre el efecto subletal peso; comprobando de esta manera la hipótesis planteada en la presente investigación. Para la exposición mixta se determinaron valores de metamidofos (1,17 mg·kg<sup>-1</sup>) y alfa-cipermetrina (37,01 mg·kg<sup>-1</sup>) más bajos en comparación con lo reportado en la exposición individual.

De la misma forma, Zhou *et al.* (2010) determinó un efecto tóxico sinérgico para un piretroide (cipermetrina) y un insecticida organofosforado (metamidofos) no solo en la toxicidad aguda, sino también la toxicidad crónica, es decir, el crecimiento y la reproducción de las lombrices.

Liang y Zhou (2003) realizaron estudios de toxicidad combinada simple y binaria de metamidofos, acetoclor y Cu actuando sobre lombrices de tierra *E. foetida*. Los valores de su dosis letal media (DL<sub>50</sub>) fueron 0,307 mg·kg<sup>-1</sup> para el acetoclor, 0,708 mg·kg<sup>-1</sup> para el metamidofos y 118,70 mg·kg<sup>-1</sup> para el Cu; evidenciándose un efecto sinérgico resultado de la exposición mixta.

Las interacciones entre los compuestos químicos pueden afectar básicamente a seis (06) procesos que son importantes para la toxicidad resultante de un producto químico hacia un organismo: biodisponibilidad, absorción, transporte interno, metabolización, unión en el

sitio objetivo y excreción. Se debe prestar más atención a los posibles efectos sinérgicos de las interacciones químicas, que podrían causar serios problemas ecológicos (Yang *et al.*, 2017).

Es importante indicar que el incremento de la toxicidad mixta de los plaguicidas, significa que los datos de toxicidad individual de los plaguicidas pueden subestimar el verdadero riesgo ambiental de la aplicación de los plaguicidas. (Zhou *et al.*, 2010; Chen et al 2015., y Yang *et al.*, 2017). Además, en el mercado peruano existen varios compuestos formulados que incluyen mezcla de organofosforados y piretroides (SIGIA, 2018).

#### **4.5 ENSAYO DE TOXICIDAD SUELO AGRÍCOLA**

Los ensayos realizados con suelo agrícola, que simulan escenarios de exposición real y en los cuales se comprobó mediante análisis de laboratorio la presencia de una mezcla de plaguicidas, mostraron una relación dosis respuesta positiva a un periodo de 14 días para todo nivel de tratamiento.

En la Tabla 35 se muestra el efecto de la exposición del suelo agrícola “A” (inmediatamente después de la aplicación) en relación al porcentaje de mortalidad. Para un periodo de exposición de 7 días se encontraron resultados de mortalidad al cuarto nivel de tratamiento, a diferencia del periodo de 14 días que presentó una respuesta positiva en todos los niveles de tratamiento, encontrándose una  $DL_{50}$  a los 14 días de 36,38 % (SPSS) y 33,6 % (Finney, 1952). Además, se calcularon los valores de los parámetros NOEC (25 %<sub>7d, 14 d</sub>) y LOEC (50 %<sub>7d, 14 d</sub>).



**Tabla 35: Efecto del suelo agrícola “A” en la mortalidad (%) de *E. andrei***

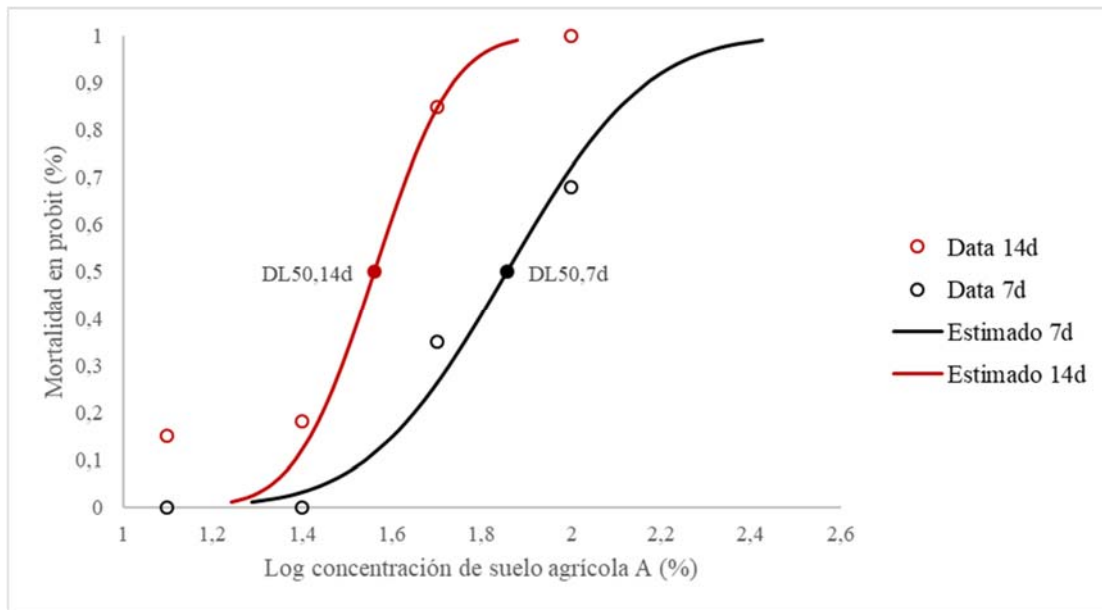
Concentración (%)	Mortalidad (%)	
	7 d	14 d
Control	0a	0a
C <sub>1</sub> (6,25 %)	0a	7,5a
C <sub>2</sub> (12,5 %)	0a	15a
C <sub>3</sub> (25 %)	0a	17,5a
C <sub>4</sub> (50 %)	35ab	85b
C <sub>5</sub> (100 %)	67,5b	100b
Kruskal-Wallis (H)	15,292	18,817
Sig. (P<0,05)	0,002	0,001
Parámetros toxicológicos		
NOEC (%)	25	25
LOEC (%)	50	50
	Probit (SPSS)	
DL <sub>50</sub> (%)	71,8	36,38
<i>Inferior</i> (95 %)	45,19	24,64
<i>Superior</i> (95 %)	121,76	46,55
	Probit (Finney, 1952)	
DL <sub>50</sub> (%)	68,70	33,60
<i>LC Inferior</i> (95 %)	46,40	23,30
<i>LC Superior</i> (95 %)	101,90	48,50

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P < 0,05).

Kruskal-Wallis= Prueba no paramétrica, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, LC= límite de confianza.

En la Figura 28 se muestra la curva dosis-respuesta para el efecto del suelo agrícola “A” sobre *E. andrei*.



**Figura 28: Curva dosis – respuesta (mortalidad) /Suelo agrícola “A” en *E. andrei*.**

FUENTE: Elaboración propia

El efecto del suelo agrícola “A” para el factor peso se muestra en la Tabla 36, se observa una tendencia de reducción de peso a medida que el porcentaje de suelo agrícola aumenta, encontrándose un valor de  $DE_{50}$  de 63,13 % (SPSS) y 59,2 % (Finney, 1952) para un periodo de exposición de 7 días y un valor de 59,3 % (SPSS y Finney) para un periodo de 14 días. Se calcularon valores NOEC (12,5 %<sub>7d</sub> y 6,25 %<sub>14d</sub>) y valores de LOEC (25 %<sub>7d</sub> y 12,5 %<sub>14d</sub>).

Al realizarse la prueba estadística de ANOVA, se observó una relación dependiente entre el peso y el nivel de tratamiento (p-valor<0,05).

**Tabla 36: Efecto del suelo agrícola “A” en el peso (mg) de *E. andrei***

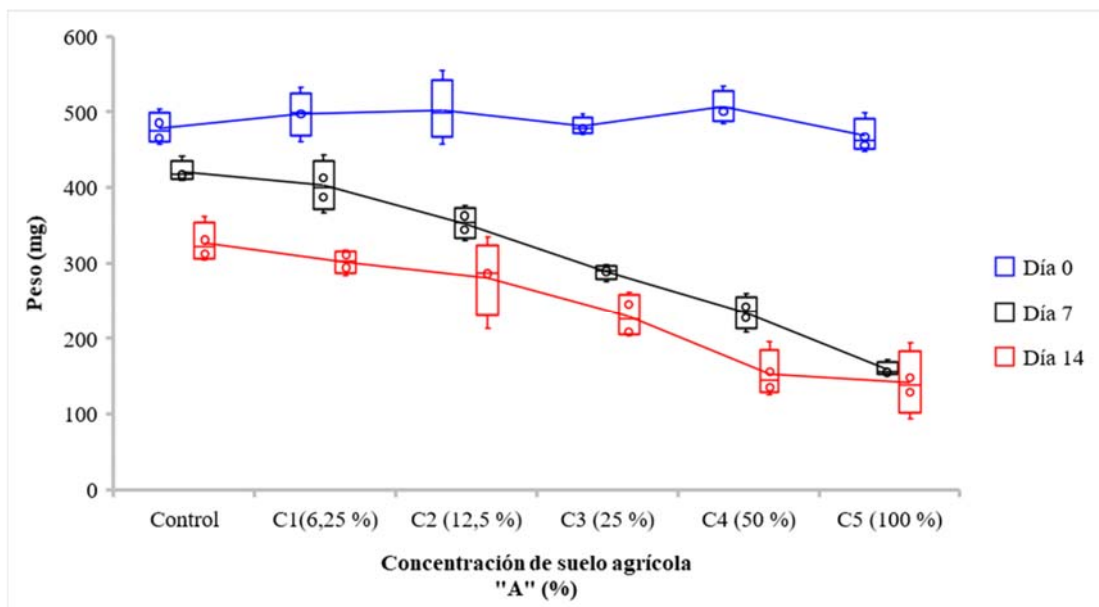
Concentración (%)	Peso húmedo (mg)	
	7 d	14 d
Control	421a	327a
C <sub>1</sub> (6,25 %)	402a	301a
C <sub>2</sub> (12,5 %)	353b	281ab
C <sub>3</sub> (25 %)	288c	229b
C <sub>4</sub> (50 %)	235d	153c
C <sub>5</sub> (100 %)	159e	141c
Shapiro Wilk	0,929	0,937
Sig. (p>0,05)	0,094	0,141
Levene	2,476	0,673
Sig. (p>0,05)	0,071	0,649
F	106,548	28,824
Sig (p<0,05)	0	0
<b>Parámetros toxicológicos</b>		
NOEC	12,5	6,250
LOEC	25	12,5
Probit (SPSS)		
DE <sub>50</sub> (%)	63,13	59,37
<i>Inferior</i> (95 %)	41,062	4,619
<i>Superior</i> (95 %)	81,679	115,108
Probit (Finney, 1952)		
DE <sub>50</sub> (%)	59,2	59,3
<i>LC Inferior</i> (95 %)	33,3	34,3
<i>LC Superior</i> (95 %)	105,3	102,4

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

Shapiro-Wilk= Test de normalidad, Levene= Test de homogeneidad de varianzas, F= ANOVA, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, LC= límite de confianza.

En la Figura 29 se muestra el diagrama de cajas para los datos de peso, del cual se puede apreciar que, a mayor nivel de tratamiento, la reducción de peso es más significativa con respecto del control.



**Figura 29: Variación del peso de *E. andrei* a los día 0, día 7 y día 14 – Suelo agrícola “A”**

FUENTE: Elaboración propia

Para los ensayos realizados con el suelo “B” (6 días después de la aplicación), los resultados se muestran en la Tabla 37. A los 7 días de exposición se encontró un dosis-respuesta positiva al cuarto nivel de tratamiento, a diferencia del periodo de exposición de 14 días, para el cual se reportó un porcentaje de mortalidad en todos los niveles de tratamiento. Con respecto a los parámetros toxicológicos, se cuentan únicamente con resultados de método Finney (1952), encontrándose un valor de  $DL_{50}$  de 18,12 % para un periodo de exposición de 7 días y un valor de 59,30 % para un periodo de 14 días. Se calcularon valores NOEC (12,5 %<sub>7d</sub> y 6,25 %<sub>14d</sub>) y valores de LOEC (25 %<sub>7d</sub> y 12,5 %<sub>14d</sub>).

**Tabla 37: Efecto del suelo agrícola “B” en la mortalidad (%) de *E. andrei***

Concentración (%)	Mortalidad (%)	
	7 d	14 d
Control	0a	0a
C1 (6,25 %)	0a	20ab
C2 (12,5 %)	0a	47,5b
C3 (25 %)	0a	55b
C4 (50 %)	37,5b	100c
C5 (100 %)	17	100c
Kruskal-Wallis (H)	18,513	19,052
sig. (p<0,05)	0,09	0,02
Parámetros toxicológicos		
NOEC (%)	25	6,25
LOEC (%)	50	6,25
	Probit (Finney, 1952)	
DL <sub>50</sub> (%)	38,339	18,108
LC Inferior (95 %)	26,597	10,513
LC Superior (95 %)	55,264	31,192

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

Kruskal-Wallis= Prueba no paramétrica, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, LC= límite de confianza.

En relación al punto final peso, se observa una clara tendencia, a medida que el porcentaje de proporción de suelo real aumenta, disminuye el peso. (Tabla 38)

**Tabla 38: Efecto del suelo agrícola “B” en el peso (mg) de *E. andrei***

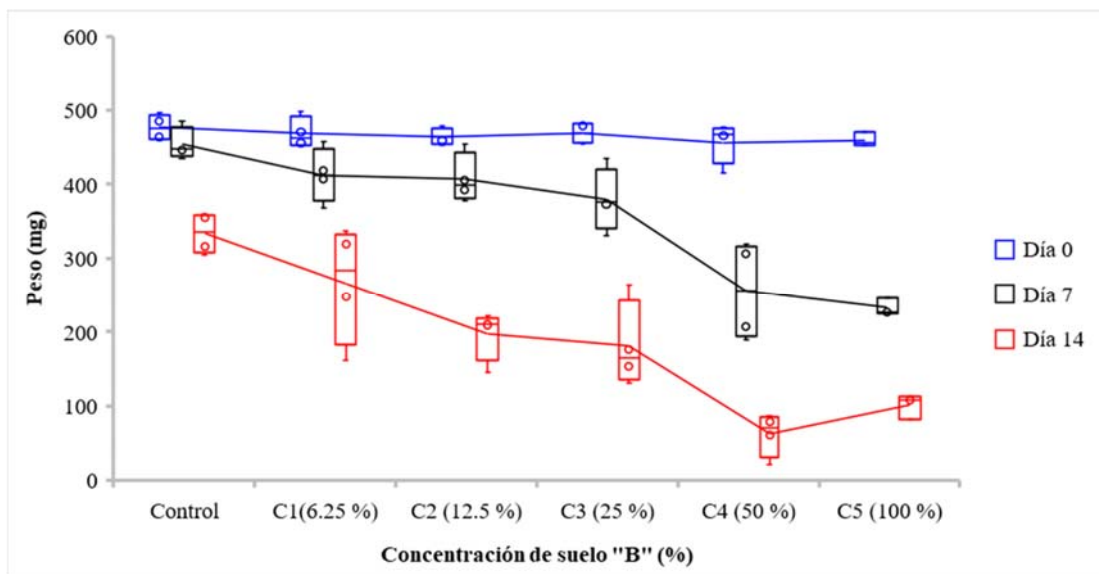
Concentración (%)	Peso húmedo (mg)	
	7 d	14 d
Control	454a	334a
C1 (6,25 %)	413a	266ab
C2 (12,5 %)	408a	197bc
C3 (25 %)	379a	181bc
C4 (50 %)	255b	62cd
C5 (100 %)	232b	100d
Shapiro Wilk	--	0,947
sig. (p>0,05)	--	0,251
Levene	--	2,281
sig. (p>0,05)	--	0,093
F (H*)	16,864*	17,352
sig. (p<0,05)	0,005	0
<b>Parámetros toxicológicos</b>		
NOEC (%)	25	<6,25
LOEC (%)	50	6,25
	Probit (Finney, 1952)	
DE <sub>50</sub> (%)	>100	23,86
LC Inferior (95 %)	Nd	12,21
LC Superior (95 %)	Nd	46,63

FUENTE: Elaboración propia

Las medias seguidas por la misma letra, en las columnas, no difieren entre sí por la prueba de Tukey (P <0,05).

Shapiro-Wilk= Test de normalidad, Levene= Test de homogeneidad de varianzas, F= ANOVA, H= Kruskal-Wallis, NOEC= concentración de efecto no observado, LOEC= concentración más baja donde se observa efecto, LC= límite de confianza.

En la Figura 30 se muestra el efecto del suelo agrícola sobre el peso, se puede apreciar que en el cuarto y quinto nivel de tratamiento hay una mayor reducción de peso respecto del control, además se observa que en el cuarto nivel de tratamiento es mayor que en el quinto nivel.



**Figura 30: Variación del peso de *E. andrei* a los día 0, día 7 y día 14 – Suelo agrícola “B”**

FUENTE: Elaboración propia

Los resultados de las pruebas de laboratorio de las muestras de suelo agrícola reportaron la presencia de múltiples plaguicidas, encontrándose la mayoría de ellos por debajo del límite de detección y solo por encima del límite de detección al clorpirifos, metribuzina y p,p-DDT. En la Tabla 39 presenta las características, propiedades y uso de los compuestos que presentaron valor por encima del valor de detección.

**Tabla 39: Características, propiedades y uso de plaguicidas presentes en el suelo agrícola**

<b>Compuesto</b>	<b>Tipo de compuesto</b>	<b>Acción</b>	<b>Categoría (OMS)</b>	<b>CAS#</b>	<b>Persistencia en el suelo</b>	<b>Uso</b>
Clorpirifos	Insecticida organofosforado	Inhibición de la enzima colinestarsa (AChE)	Categoría II: Moderadamente peligroso	2921-88-2	Extrema a no persistente	Globalmente usado en la agricultura, industria, uso doméstico y algunos son ambientalmente persistentes
Metribuzina	Herbicida triazinona	Inhibición del fotosistema II	Categoría II: Moderadamente peligroso	21087-64-9	Mediana a no persistente	Control selectivo de malezas de hoja ancha anuales y gramíneas en caña de azúcar, cereales, papa, piña y tomate.
p,p-DDT	Insecticida Organoclorado	Inhibición del cierre apropiado de los canales de sodio (Na <sup>+</sup> )	Categoría II: Moderadamente peligroso	50-29-3	Extrema	Plaguicida antiguamente usado para el control de insectos en la agricultura y el control de enfermedades (malaria) en la salud pública

FUENTE: Manual de plaguicida de Centroamérica (2018).



En la Tabla 40 se presentan información relacionada a la toxicología de los plaguicidas que se presentaron por encima del límite de detección.

**Tabla 40: Concentración y toxicidad de plaguicidas reportados en el suelo agrícola**

Plaguicidas (mg·kg <sup>-1</sup> )	Tipo	Concentración (mg·kg <sup>-1</sup> )		DL <sub>50</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	DT <sub>50</sub> (días)	Fuente
		Suelo A	Suelo B			
Clorpirifos	Organofosforado	0,011	0,008	91,8	27,6	Zhou <i>et al.</i> , 2007
Metribuzina	Triazinona	0,013	< 0,009	427	19	PPDB, 2018
p.p-DDT	Organoclorado	0,007	0,006	>1000	6 200	PPDB, 2018

Suelo A= Tomado inmediatamente después de la aplicación, suelo B= Tomado cinco días después de la aplicación, DL<sub>50</sub>=Dosis letal media a 14 días en *E. foetida*, DT<sub>50</sub>=Tiempo de vida media

A pesar de que la mayoría de plaguicidas registrados en las muestras de suelo agrícola se encontraron por debajo del límite de detección, se reportó un alto efecto tóxico encontrándose una  $DL_{50}$  de 36,38 % para el suelo “A” (inmediatamente después de la aplicación) y un  $DL_{50}$  de 17,80 % para el suelo “B” (6 días después de la aplicación). De lo anterior se desprende que el suelo “B” es más tóxico que el suelo “A”. Asimismo, ambas muestras de suelos han reportado un efecto subletal, presentando una reducción significativa de peso en todo nivel de tratamiento con respecto del control. Es importante señalar que muchos de los compuestos formulado utilizados en campo, contienen elementos sinérgicos como surfactante y otros aditivos para mejorar la captación pertenecen al gran grupo de surfactantes y otros aditivos agregados a plaguicidas formulados con el objetivo de mejorar la absorción de los compuestos activos. (Pereira *et al.*, 2009)

De los plaguicidas reportados, se encontró al herbicida (metribuzina). Los herbicidas representan una parte importante del total de pesticidas utilizados. Estudios anteriores han reportado que la metribuzina tiene un efecto en la supervivencia y en el peso sobre la lombriz (*Octodrilus complanatus*) y este efecto se incrementó a mayores tasas de aplicación de lo recomendado (Travlos *et al.*, 2017). Según EFSA (2010), la toxicidad aguda de metribuzin para las lombrices es leve, sin embargo, se registraron efectos sobre el peso corporal a una tasa de aplicación de 3,5 kg i.a·ha<sup>-1</sup>.

Con respecto al clorpirifos registrado en el suelo agrícola, Zhou *et al.* (2007), observaron que el  $DL_{50}$  es de 91,78 mg·kg<sup>-1</sup> (14 días) sobre la lombriz de tierra y la categorizó como de toxicidad baja. Sin embargo, se observa que la concentración reportada en las muestras de suelo agrícola es significativamente menor que el  $DL_{50}$ . Innacone y Alvariño (2004) observaron un efecto significativo de disminución de peso al exponer clorpirifos ante *E. foetida*.

El uso del DDT como plaguicida ha sido muy restrictivo desde 1981 y está prohibido desde 1986 en la Unión Europea. En un estudio de la biodisponibilidad de DDT, DDE y DDD para las lombrices de tierra (Morrison *et al.*, 1999) se demostró que las concentraciones de DDT, DDE, DDD y  $\Sigma$ DDT eran consistentemente más bajas en lombrices expuestas a estos compuestos que habían persistido en el suelo durante 49 años que en lombrices expuestas a suelo que contenía insecticidas recién agregados a la misma

concentración. Los porcentajes de absorción de DDT y sus metabolitos por lombrices se encontraban en el rango de 1,30 - 1,75% para el suelo de 49 años, pero fueron 4,00 – 15,2% para el suelo fresco (Morrison *et al.*, 2000 citado por EFSA, 2006).

En situaciones de campo, la exposición a lombrices depende en gran medida del grado de deposición de plaguicidas en la superficie del suelo, del comportamiento del pesticida en el suelo y en la distribución vertical de las lombrices en el suelo. El ecosistema del suelo es muy complejo, donde la interacción ocurre entre factores abióticos y bióticos (Yasmin y D'Souza, 2010).

#### **4.6 EVALUACIÓN DE RIESGO AMBIENTAL**

Para el análisis de riesgo ambiental se establecieron tres (03) escenarios de riesgo, lo cuales fueron detallados en la sección de metodología. En la Tabla 41 se muestra los resultados del cálculo de la concentración ambiental estimada (PEC) para cada pesticida evaluado y periodo de exposición y en la Tabla 42 y en la Tabla 43 se muestra el cálculo del PNEC para la exposición mixta e individual respectivamente.

**Tabla 41: Cálculo de la concentración ambiental estimada (PEC) de metamidofos y alfa-cipermetrina**

Nombre comercial	Ingrediente activo (i.a.)	Concentración de ingrediente activo (g·L <sup>-1</sup> )	Día	Concentración ambiental estimada (PEC) mg·kg <sup>-1</sup>								
				Escenario 1= DR			Escenario 2= 2·DR			Escenario 3= 3·DR		
				1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>
MATADOR ® 600 SL	Metamidofos	600	7	0,480	0,430	0,030	0,951	0,468	0,037	1,427	0,846	0,043
			14	0,140	0,130	0,010	0,283	0,139	0,011	0,424	0,503	0,013
CIPERMEX® SUPER 10 CE	Alfa-cipermetrina	10	7	0,058	1,205	0,913	0,116	1,248	0,945	0,174	1,291	0,977
			14	0,051	1,049	0,795	0,101	1,087	0,822	0,152	1,124	0,850

FUENTE: Elaboración propia

Los escenarios simulan tres aplicaciones cada 15 días, Escenario 1= tasa de aplicación igual a la dosis recomendada, Escenario 2= tasa de aplicación al doble de la dosis recomendada, Escenario 3=tasa de aplicación al triple de la dosis recomendada, DR: Dosis recomendada

**Tabla 42: Cálculo del PNEC para los plaguicidas en estudio – Exposición individual**

i.a.	Día	PNEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	
		SPSS	Finney (1952)
Metamidofos	7	0,0575	0,0577
	14	0,0069	0,0032
Alfa-cipermetrina	7	0,2932	0,2273
	14	0,2748	0,4283

FUENTE: Elaboración propia

PNEC= concentración prevista sin efecto

**Tabla 43: Cálculo del PNEC para los plaguicidas en estudio – Exposición mixta  
(metamidofos + alfa-cipermetrina)**

i.a.	Día	PNEC (mg·kg <sup>-1</sup> )	
		SPSS	Finney (1952)
Metamidofos	7	0,001679	0,000959
	14	0,001172	0,000824
Alfa-cipermetrina	7	0,059937	0,038745
	14	0,037012	0,033183

FUENTE: Elaboración propia

PNEC= concentración prevista sin efecto

En la Tabla 44 se presenta los resultados del cálculo de coeficiente de riesgo, mediante la comparación entre el PEC y la DL<sub>50</sub> para la exposición individual. Como se muestra los índices son menores a 1 (valor de preocupación), mostrando de esta manera que los pesticidas en estudio no presentarían un riesgo para los tres (03) escenarios evaluados. Al realizar el cálculo de la relación de PEC y PNEC de la exposición individual (Tabla 45) arrojó valores mayores a 1 en todos los escenarios estudiados, a partir de estos datos, se evidencia la existencia de riesgo de la exposición de los pesticidas en estudio sobre *E. andrei*.

**Tabla 44: Cálculo de coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y DL<sub>50</sub> - Exposición individual**

i.a.	Método de cálculo Probit	Día	Cociente de riesgo (Relación PEC y DL <sub>50</sub> )								
			Escenario 1			Escenario 2			Escenario 3		
			1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>
Metamidofos	SPSS	7	0,00835	0,00748	0,00052	0,01655	0,00813	0,00065	0,02482	0,01471	0,00075
		14	0,02037	0,01892	0,00146	0,04116	0,02023	0,00162	0,06174	0,07318	0,00187
	Finney (1952)	7	0,00832	0,00746	0,00052	0,01650	0,00811	0,00065	0,02474	0,01466	0,00075
		14	0,04383	0,04070	0,00313	0,08855	0,04352	0,00348	0,13283	0,15744	0,00403
Alfa-cipermetrina	SPSS	7	0,00020	0,00411	0,00311	0,00040	0,00426	0,00322	0,00059	0,00440	0,00333
		14	0,00018	0,00382	0,00289	0,00037	0,00395	0,00299	0,00055	0,00409	0,00309
	Finney (1952)	7	0,00026	0,00530	0,00402	0,00051	0,00549	0,00416	0,00077	0,00568	0,00430
		14	0,00012	0,00245	0,00186	0,00024	0,00254	0,00192	0,00035	0,00262	0,00199

FUENTE: Elaboración propia

Los escenarios simulan tres aplicaciones cada 15 días, Escenario 1= tasa de aplicación igual a la dosis recomendada, Escenario 2= tasa de aplicación al doble de la dosis recomendada, Escenario 3=tasa de aplicación al triple de la dosis recomendada, PEC= concentración ambiental estimada, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, CR >0,5= Existe riesgo, CR <0,5= No existe riesgo.

**Tabla 45: Cálculo del coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y NPEC – Exposición individual**

i.a.	Método de cálculo Probit	Día	CR= PEC/NPEC								
			Escenario 1			Escenario 2			Escenario 3		
			1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>
Metamidofos	SPSS	7	8,348*	7,478*	0,522	16,545*	8,131*	0,651	24,818*	14,708*	0,753
		14	20,373*	18,917*	1,455*	41,159*	20,226*	1,619*	61,738*	73,176*	1,874*
	Finney (1952)	7	8,323*	7,456*	0,520	16,496*	8,106*	0,649	24,743*	14,664*	0,751
		14	43,832*	40,701*	3,131*	88,554*	43,516*	3,483*	132,832*	157,440*	4,032*
Alfa-cipermetrina	SPSS	7	0,198	4,110*	3,113*	0,396	4,257*	3,223*	0,594	4,405*	3,332*
		14	0,184	3,817*	2,891*	0,368	3,954*	2,993*	0,552	4,090*	3,094*
	Finney (1952)	7	0,255	5,301*	4,015*	0,511	5,491*	4,156*	0,766	5,681*	4,297*
		14	0,118	2,449*	1,855*	0,236	2,537*	1,920*	0,354	2,625*	1,986*

FUENTE: Elaboración propia

CR= coeficiente de riesgo, PEC= concentración ambiental estimada, NPEC= concentración prevista sin efecto, CR>1= Existe riesgo, CR<1= No existe riesgo, \* Valor de índice que representa riesgo, i.a.= ingrediente activo.



Asimismo, se realizó la evaluación de riesgo para la toxicidad de la exposición mixta. En la Tabla 46 se presenta los valores del cociente entre la PEC y la  $DL_{50}$ , encontrándose un valor mayor a 1 en el tercer escenario para la primera aplicación y en la Tabla 47 se presenta el cálculo de la relación entre PEC y NPEC, estos resultados comprueban la hipótesis de la presente investigación, evidenciando la existencia de riesgo ambiental del uso de los plaguicidas en estudio.

**Tabla 46: Cálculo de coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y DL<sub>50</sub> - Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina)**

i.a.	Método de cálculo	Día	Cociente de riesgo (Relación PEC y DL <sub>50</sub> )								
			Escenario 1			Escenario 2			Escenario 3		
			1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>
Metamidofos	SPSS	7	0,286	0,256	0,018	0,567	0,278	0,022	0,850*	0,504*	0,026
		14	0,119	0,111	0,009	0,241	0,119	0,009	0,362	0,429	0,011
	Finney	7	0,501*	0,448	0,031	0,992	0,487	0,039	1,488*	0,882*	0,045
		14	0,170	0,158	0,012	0,343	0,169	0,014	0,515	0,610	0,016
Alfa-cipermetrina	SPSS	7	0,001	0,020	0,015	0,002	0,021	0,016	0,003	0,022	0,016
		14	0,001	0,028	0,021	0,003	0,029	0,022	0,004	0,030	0,023
	Finney	7	0,001	0,031	0,024	0,003	0,032	0,024	0,004	0,033	0,025
		14	0,002	0,032	0,024	0,003	0,033	0,025	0,005	0,034	0,026

FUENTE: Elaboración propia

PEC= concentración ambiental estimada, DL<sub>50</sub>= dosis letal media, CR >0,5= Existe riesgo, CR<0,5= No existe riesgo, \* Valor de índice que representa riesgo, i.a.= ingrediente activo.

**Tabla 47: Cálculo del coeficiente de riesgo (CR) – Relación PEC y NPEC - Exposición mixta (metamidofos + alfa-cipermetrina)**

i.a.	Método de cálculo Probit	Día	CR = PEC/NPEC								
			Escenario 1			Escenario 2			Escenario 3		
			1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>	1 <sup>ra</sup>	2 <sup>da</sup>	3 <sup>ra</sup>
Metamidofos	SPSS	7	285,884*	256,105*	17,868*	566,626*	278,445*	22,289*	849,940*	50,701*	25,802*
		14	119,454*	110,922*	8,532*	241,333*	118,593*	9,493*	362,000*	429,066*	10,989*
	Finney	7	500,521*	448,384*	31,283*	992,039*	487,497*	39,024*	1488,059*	881,871*	45,174*
		14	169,903*	157,767*	12,136*	343,256*	168,679*	13,503*	514,884*	610,273*	15,631*
Alfa-cipermetrina	SPSS	7	0,968	20,105*	15,228*	1,937*	20,824*	15,763*	2,905*	21,544*	16,297*
		14	1,365*	28,343*	21,468*	2,730*	29,357*	22,222*	4,095*	30,371*	22,975*
	Finney	7	1,498*	31,101*	23,557*	2,996*	32,214*	24,384*	4,494*	33,327*	25,211*
		14	1,523*	31,613*	23,945*	3,045*	32,745*	24,786*	4,568*	33,876*	25,627*

FUENTE: Elaboración propia

CR= Coeficiente de riesgo, PEC= concentración ambiental estimada, NPEC= concentración prevista sin efecto, CR>1= Existe riesgo, CR<1= No existe riesgo, \* Valor de índice que representa riesgo, i.a.= ingrediente activo.

De acuerdo a los resultados de la evaluación de riesgo, el ratio de PEC/DL<sub>50</sub> (Tabla 44 y Tabla 46) se encontró por debajo de 1 en todos los escenarios planteados, tanto para la exposición individual y la exposición mixta, con la excepción del metamidofos que registró un valor mayor a 1 en el tercer escenario. Los resultados de este índice indican que el uso de estos plaguicidas no representaría un riesgo sobre el ecosistema terrestre.

En relación al ratio PEC/PNEC (Tabla 45 y Tabla 47), se evidencia que la exposición individual y mixta de los plaguicidas evaluados representa un riesgo ambiental para el ecosistema terrestre. De acuerdo con el registro de riesgo de plaguicidas de la Unión Europea, para el caso de exposición individual, el metamidofos presentó valores de CR agudo mayor a 10 para un periodo de exposición de 14 días en los tres (03) escenarios evaluados, mientras que para alfa-cipermetrina se registró un valor de CR agudo  $\geq 10$  encontrándose dentro del rango aceptable. Con respecto a los valores calculados para la exposición mixta, ambos plaguicidas reportaron valores de CR agudo mayor a 10.

La diferencia entre el ratio PEC/DL<sub>50</sub> y el ratio PEC/NPEC, es que este último considera un factor de ajuste de seguridad empleados para evaluación de riesgo de la salud humana. Esto se basa principalmente en el principio de precaución, que Forbes y Calow (2002) citado por Hickey (2010) describen como: «Aplicar controles a los productos químicos antes de la comprensión científica si hay una presunción de que se causará daño».

Existen otros sistemas de caracterización de riesgo, Zhou *et al.* (2007) aplicaron lo establecido por MEPPRC (1990). Esta clasificación de toxicidad sugiere lo siguiente: DL<sub>50</sub> < 1 mg·kg<sup>-1</sup> para alta toxicidad, DL<sub>50</sub> entre 1-10 mg·kg<sup>-1</sup> para mediana toxicidad y DL<sub>50</sub> > 10 mg·kg<sup>-1</sup> para plaguicidas de baja toxicidad; y valores de DL<sub>50</sub> superiores a 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> son inofensivos para las lombrices. De acuerdo a esta clasificación, el metamidofos se encontraría en la categoría de medianamente tóxico y el alfa-cipermetrina sería de baja toxicidad para la exposición individual; mientras que para la exposición mixta el valor de DL<sub>50</sub> para metamidofos indica una alta toxicidad y para el alfa-cipermetrina indica una baja toxicidad.

Además, se observa el valor de PEC de alfa-cipermetrina se acumula en el tiempo con respecto al tiempo en un orden de magnitud de 20 entre la primera y segunda aplicación, mientras que el valor de PEC para metamidofos disminuye con respecto del tiempo, debido

al tiempo de vida media (DT<sub>50</sub>) es mayor del alfa-cipermetrina respecto del metamidofos. Algunos de los compuestos pueden persistir durante un largo tiempo (vida media larga) y permanecer en el suelo dos (02) o más temporadas. Esto causa un efecto aditivo en los organismos del suelo especialmente las lombrices de tierra y la situación es más severa cuando se usan mezclas de pesticidas en el campo (Stanley *et al.*, 2016).

La evaluación de riesgo en los tres (03) escenarios y simulando múltiples aplicaciones nos brinda una mejor caracterización del riesgo de uso de plaguicidas debido a que simula condiciones más reales de campo (Pelosi *et al.*, 2014). Además de los valores de exposición individual frente a los valores de la exposición mixta, estos últimos fueron mayores. Por lo tanto, los experimentos con un solo insecticida son poco realista para las condiciones del campo (Zhou *et al.*, 2011).

Es importante indicar que se registraron mayores valores de CR frente al uso de mayores dosis a las recomendadas en la etiqueta de los plaguicidas comerciales, esto es relevante dado que, existen registros de que, en el Perú, son muy comunes las aplicaciones del metamidofos al doble de las concentraciones recomendadas y de dos (02) a nueve (09) aplicaciones continuas para el control de las plagas en una sola campaña por el agricultor (Iannacone *et al.*, 2008).

Cabe destacar que los ensayos de laboratorio mantienen condiciones uniformes, siendo el único factor de influencia y/o estrés, la concentración del plaguicida, sin embargo, la heterogeneidad de la matriz del suelo y la complejidad de las interacciones ecológicas son los dos (02) principales obstáculos para evaluar la ecotoxicología del suelo (Eijsackers, 1994 citado por Stanley, 2016).

Las lombrices de tierra han demostrado ser bioindicadores del ecosistema terrestre para detectar el riesgo de contaminación de suelos por el uso de plaguicidas. Los ensayos ecotoxicológicos desarrollados en las diferentes investigaciones difieren en el tipo de compuesto, los compuestos formulados comerciales y los compuestos con un alto grado analítico; sin embargo, los primeros simulan condiciones más reales en campo. Las pruebas de toxicidad mixta de los plaguicidas, nos demuestran una evaluación más real a las condiciones de campo. Es necesario, realizar más estudios usando mezcla de

compuestos químicos como insecticidas, herbicidas, metales entre otros; en diversos organismos, para mejorar la evaluación de riesgo ambiental de la agricultura.

## V. CONCLUSIONES

- Se determinó que el metamidofos tiene efectos tóxicos letales a partir del nivel más bajo de tratamiento y efectos subletales (reducción significativa de peso corporal a mayores concentraciones), en pruebas de suelos artificial sobre *E. andrei*. Asimismo, reportó mayores valores de toxicidad a mayor periodo de exposición.
- Se encontró que el alfa-cipermetrina tiene efectos tóxicos letales (porcentaje de mortalidad) y efectos subletales (reducción de peso corporal) en los ensayos con suelo artificial sobre *E. andrei*.
- Los resultados evidencian que el metamidofos demostró tener un efecto más tóxico que el alfa-cipermetrina, basado en los valores de dosis letal media (DL<sub>50,14d</sub>).
- La toxicidad mixta de un plaguicida organofosforado (metamidofos) y un piretroide (alfa-cipermetrina) causa mayores efectos sobre la tasa de mortalidad y variación de peso corporal que la exposición individual sobre *E. andrei*.
- Los datos de toxicidad individual podrían no reflejar el verdadero riesgo ecológico que representan el uso de plaguicidas, dado que en campo coexisten múltiples plaguicidas como herbicidas e insecticidas.
- Según los resultados de los parámetros toxicológicos obtenidos en las pruebas individuales y mixtas, las lombrices de tierra (*E. andrei*) son extremadamente sensibles a los plaguicidas, destacando que el uso de los plaguicidas se debería realizar con responsabilidad.
- Con respecto a la evaluación de riesgo ambiental, el ratio PEC/DL<sub>50</sub> evidencia que no existe un riesgo ambiental de los plaguicidas evaluados sobre el ecosistema terrestre en los tres (03) escenarios planteados. Sin embargo, el ratio PEC/PNEC demostró que el uso de los plaguicidas evaluados representa un riesgo ambiental sobre el ecosistema terrestre en los tres (03) escenarios planteados.
- Los resultados de CR agudo de la exposición individual fueron menores a los cocientes de riesgo de la exposición mixta, en los tres (03) escenarios propuestos.

- En el metamidofos se encontró mayores valores de CR agudo fuera del rango aceptable ( $\geq 10$ ) establecido por Unión Europea, mientras que el alfa-cipermetrina registró valores dentro del rango.
- En las muestras de suelo agrícola (A y B) se determinó que tienen un efecto tóxico letal (mortalidad) y subletal (reducción de peso) al exponerlo sobre *E. andrei*. El suelo agrícola B (5 d días después de la aplicación) evidenció tener un mayor efecto tóxico con respecto del suelo A (inmediatamente después de la aplicación).



## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar estudio de toxicidad crónica para verificar el efecto sobre la producción y crecimiento de los plaguicidas evaluados sobre *E. andrei*.
- Evaluar la exposición de los plaguicidas de la presente investigación sobre otros microorganismos de suelo típicos.
- Evaluar el efecto tóxico mixto de plaguicidas, herbicidas y metales, debido a que en el mercado existen múltiples formulaciones comerciales que incluye estos tres (03) compuestos.
- Realizar ensayos para determinar los efectos reales de los plaguicidas en los sistemas de cultivo en condiciones realistas en términos de suelo, dosis de pesticida y duración experimental.
- Analizar otros puntos finales subletales como la actividad enzimática y pruebas de evitación.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade, S; Silva, A; Queiroz, M; Lima, C; D'Antonino, L. 2010. Ametryn sorption and desorption in Red-Yellow Latosol and Red-Yellow Ultisol with different pH values. *Planta Daninha* 28(1): 177–184.
2. Alves, P; Cardoso, E; Martines, A; Sousa, J; Pasini, A. 2013. Earthworm ecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. *Chemosphere*, 90(11), 2674–2682. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.046>
3. Amorim, M; Römbke, J; Soares, M. 2005. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of Benomyl, Carbendazim, phenmedipham and different soil types,” *Chemosphere*, vol. 59, no. 4, pp. 501–510, 2005.
4. Arias-Estévez, M; López-Periago, E; Martínez-Carballo, E.; Simal-Gándara, J.; Mejuto, J. C.; & García-Río, L. 2008. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 123(4), 247–260. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2007.07.011>
5. Arrázola, E. 2016. “Evaluación del riesgo ambiental de la mezcla de alfacipermetrina e imidacloprid sobre la lombriz de tierra (*Eisenia fetida*).” Tesis Ing. Amb. Universidad Científica del Sur, 60-65 p.
6. Barata, C; Baird, D; Nogueira, A; Soares, A; Riva, M. 2006. Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to *Daphnia magna* Straus. Implications for multi-substance risks assessment. *Aquatic Toxicology*, 78(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.01.013>
7. Barnthouse, L. 1992. The role of models in ecological risk assessment: A 1990's perspective. *Environ Toxicol Chem* 11:1751-1760

8. Booth, L; Hodge, S; O'Halloran, K. 2001. Use of biomarkers in earthworms to detect use and abuse of field applications of a model organophosphate pesticide. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(5), 633–640. <https://doi.org/10.1007/s001280171>
9. Buch, A; Brown, G; Niva, C; Sautter, K; Sousa, J. 2013. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). *Applied Soil Ecology*, 69, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.12.011>
10. Cedergreen, N. 2014. Quantifying synergy: A systematic review of mixture toxicity studies within environmental toxicology. *PLOS ONE*, 9(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096580>
11. Chapman, R.; Harris, C. 1981. Persistence of four pyrethroid insecticides in a mineral and an organic soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 16(5), 605–615. <https://doi.org/10.1080/03601238109372282>
12. Chen, C; Wang, Y; Zhao, X; Wang, Q; Qian, Y. 2014. Comparative and combined acute toxicity of butachlor, imidacloprid and chlorpyrifos on earthworm, *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 100, 111–115. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.023>
13. Chen, C; Wang, Y; Qian, Y; Zhao, X; Wang, Q. 2015. The synergistic toxicity of the multiple chemical mixtures: Implications for risk assessment in the terrestrial environment. *Environment International*, 77, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.014>
14. De Silva, P; Pathiratne, A; Van Gestel, C. 2009. Influence of temperature and soil type on the toxicity of three pesticides to *Eisenia andrei*. *Chemosphere*, 76(10), 1410–1415. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.06.006>
15. De Silva, P; Pathiratne, A; Van Gestel, C. 2010. Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavatus*. *Applied Soil Ecology*, 44(1), 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.09.005>
16. Devine, G.; Eza, D; Oigusuku, E; Furlong, M. 2008. Uso de insecticidas: Contexto y consecuencias ecológicas. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica*, 25(1), 74–100. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2008.251.1241>

17. Diaz, M. 2012. Riesgo ecotoxicológico del metamidofos. Rev. Inter. Revista Intertox de Toxicología, Risco Ambiental e Sociedade, v. 5, n. 1, p. 62-76, fev.
18. Dirección de Insumos Agropecuarios e Inocuidad Alimentaria (DIAIA). 2016. Informe del monitoreo adicional de residuos químicos y otros contaminantes en alimentos agropecuarios primarios y piensos, Año 2015.
19. Domínguez, A; Brown, G.; Sautter, K; De Oliveira, C; De Vasconcelos, E; Niva, C; Bedano, J. C. 2016. Toxicity of AMPA to the earthworm *Eisenia andrei* Bouché, 1972 in tropical artificial soil. Scientific Reports, 6(January), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep19731>
20. Domínguez, J; Pérez-Losada, M. 2010. *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) y *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) son dos especies diferentes de lombrices de tierra. Acta Zoologica Mexicana, (n. s.) 2, 321–331pp.
21. ECT (Edinburgh Centre for Toxicology). Environmental Risk Assessment. UNEP/IPCS Training Module No 3. Section B. 2015.pp. 107-175. Consultado 25 de julio del 2015. Disponible en: <http://www.chem.unep.ch/irptc/Publications/riskasse/B2text.pdf>.
22. Environmental Technology Centre of Canada. 2007. Biological Test Method: Tests for Toxicity of Contaminated Soil to Earthworms (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*, or *Lumbricus terrestris*).
23. EFSA. (European Food Safety Authority). 2006. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to DDT as an undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal, 433, 1–69. Disponible en [http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/433.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/433.pdf)
24. EFSA. (European Food Safety Authority). 2010. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance metribuzin, 1(L), 1–74. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.119r>
25. EPA; U. S.; OCSPP y OPP. 2015. Ecological Risk Assessment for Pesticides: Technical Overview | US EPA. Recuperado de <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/ecological-risk-assessment-pesticides-technical#framework>

26. Espinoza, O; Bustos, E. 2015. Toxicidad y riesgo ambiental por efecto de insecticidas organofosforados sobre reproductor macho de lombriz de tierra (*Eisenia foetida*). Int. J. Med. Surg. Sci, 2(4), 723–729. Disponible en [http://www.ijmss.org/wp-content/uploads/2016/01/art\\_13\\_42.pdf](http://www.ijmss.org/wp-content/uploads/2016/01/art_13_42.pdf)
27. Espinoza-navarro, O; Ferreira, C; Bustos-Obregón, E. 2013. Effect of Methamidophos on the morphology and male reproductive parameters of the Earthworm *Eisenia foetida*, 31(3), 1097–1103.
28. EC (2003) European Commission. Technical Guidance Document on Risk Assessment in Support of The Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances and The Commission Regulation (EC) 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances and The Directive 98/EEC of the European Parliament and of the Council concerning the Placing of Biocidal Products on the market. Joint Research Center, EUR 20418 EN
29. Fava, JA; Adams, WJ; Larson, RJ; Dickson, GW; Dickson, KL; Bishop, WE. 1987 Research Priorities in Environmental Risk Assessment. - SETAC Workshop Report, Breckenridge, Colorado FDA
30. Finney, D; 1952. Probit Analysis. 2<sup>nd</sup> Edition. Journal of the Institute of Actuaries, 78 (3), 388-390.
31. Flury, M. 1996. Experimental evidence of transport of pesticides through field soils – A review. J. Environ. Qual. 25(1): 25–45.
32. Forbes, V. E; Calow, P. 2002. Extrapolation in Ecological Risk Assessment: Balancing Pragmatism and Precaution in Chemical Controls Legislation. Bio-Science, 52: 249-257.
33. Gad, S. C. 2016. Animal Models in Toxicology, Second Edition. CRC Press/Taylor & Francis. Retrieved from <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=N0PMBQAAQBAJ&pgis=1>
34. García, M. 2004. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicological test methods for tropical regions, (19), 291pp.
35. Garcia, M., Scheffczyk, A., Garcia, T., & Römbke, J. 2011. The effects of the insecticide lambda-Cyhalothrin on the earthworm *Eisenia fetida* under experimental

- conditions of tropical and temperate regions. *Environmental Pollution*, 159(2), 398–400. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.038>
36. García-santos, G., Keller-forrer, K., 2011. Avoidance behaviour of *Eisenia fetida* to carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of Colombia. *Chemosphere* 84, 651–656.
37. Gómez, A. 2014. Evaluación de la toxicidad de suelos mediante un bio-ensayo con la lombriz de tierra *Eisenia fetida*. Tesis para optar el título de Msc Ing. Amb. Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/41989/>
38. Gao, J; Wang, Y; Gao, B; Wu, L; Chen, H. 2012. Environmental fate and transport of pesticides. (L. Taylor & Francis Group, Ed.) (3rd edition, Vol. 20).
39. Gomero, L; Lizárraga, A. 1998. Plaguicidas en la sierra del Perú. *LEISA Revista de agroecología*, 15(1 y 2). Disponible en <http://www.leisa-al.org/web/index.php/volumen-15-numero-2-1/2450-plaguicidas-en-la-sierra-peruana>
40. Guerrero-padilla, A.; Chico-ruíz, J. 2011. Uso de pesticidas en el Valle Santa Catalina, La Libertad (Perú). *Revista de La Facultad de Ciencias Biológicas Universidad de Trujillo*, 31(2), 1–8.
41. Gruiz, K; Meggyes, T; & Fenyvesi, É. 2015. Engineering Tools for Environmental Risk Management – 2.
42. Haque, A; Ebing, W. 1984. Toxicity determination of pesticides to earthworms in the soil substrate. *Journal of Plant Disease and Protection*, 90(4), 395–408.
43. Hartnik, T; Styriehave, B. 2008a. Impact of biotransformation and bioavailability on the toxicity of the insecticides  $\alpha$ -cypermethrin and chlorfenvinphos in earthworm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 11057–11064. <https://doi.org/10.1021/jf8017904>.
44. Hartnik, T; Sverdrup, L; Jensen, J. 2008b. Toxicity of the pesticide alpha-cypermethrin to four soil nontarget invertebrates and implications for risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(6), 1408–1415. <https://doi.org/10.1897/07-385.1>.

45. Hickey, G. 2010. Ecotoxicological risk assessment: developments in PNEC estimation. Thesis PhD. University of Durham. Retrieved from [etheses.dur.ac.uk/344/1/thesis.pdf](http://theses.dur.ac.uk/344/1/thesis.pdf)
46. Iannacone, J; Alvariño, L. 2004. *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) (Annelida: Lumbricidae) como modelo ecotoxicológico para evaluar lindano y clorpirifos. *Acta Zoológica Lilloana*, 48(1-2), 5-12.
47. Iannacone, J; Alvarino, L; Murrugarra, Y; Arrascue, A; Alayo, M; & Salazar, N. 2008. Selectividad del insecticida metamidofos en ocho organismos terrestres no destinatarios. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 3(1), 23-24. <https://doi.org/10.5132/jbse.2008.01.004>
48. Iannacone, J; Alvariño, L; Paredes, C; Alayo, M; Mamani, N; Bonifacio, J; Miglio, M. 2011. Evaluación del riesgo ambiental de carbofurano en bioensayos con organismos no blanco. *Acta Toxicológica Argentina*, 19(1), 19-31. <https://doi.org/10.5132/jbse.2009.01.010>
49. Ibekwe, M; Papiernik, S; Gan, J; Scott, R.; Yang, C; Crowley, D; Yates, S. 2001. Impact of Fumigants on Soil Microbial Communities Impact of Fumigants on Soil Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 3245-3257. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3245> INEEC. (2010). Metamidofos, (1), 1-7. Retrieved from <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/>
50. Inglesfield, C. 1984. Toxicity of the pyrethroid insecticides cypermethrin and WL85871 to the earthworm, *Eisenia foetida* Savigny. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 33(1), 568-570. <https://doi.org/10.1007/BF01625585>
51. ISO – International Organization for Standardization, 1993. Soil Quality – Effects of Pollutants on Earthworms – Part 1: Determination of Acute Toxicity Using Artificial Soil Substrate. ISO 11268-1, Geneva, Switzerland.
52. ISO – International Organization for Standardization, 2007. Soil Quality – Avoidance Test for Testing the Quality of Soils and Effects of Chemicals on Behaviour – Part 1: Test with Earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512-1, Geneva, Switzerland.
53. Khajehali, J.; Van Leeuwen, T.; Grispuu, M.; Morou, E.; Alout, H.; Weill, M.; Tirry, L. 2010. Acetylcholinesterase point mutations in European strains of *Tetranychus*

- urticae* (Acari: Tetranychidae) resistant to organophosphates. *Pest Management Science*, 66(2), 220–228.
54. Kwon, D.; Clark, J.M; Lee S.H. 2010. Extensive gene duplication of acetylcholinesterase associated with organophosphate resistance in the two-spotted spider mite. *Insect Molecular Biology*, 19, 195-204, 2010.
  55. Laabs, V; Amelung, W; Pinto, A; Zech, W. 2002. Fate of pesticides in tropical soils of Brazil under field conditions,” *Journal of Environmental Quality*, vol. 31, no. 1, pp. 256–268, 2002.
  56. Landis, W; Yu, M.-H. 2003. Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems. CRC Press Company (Vol. 66). <https://doi.org/10.1097/OGX.0b013e3182219014>
  57. Liang, J; Zhou, Q. 2003. Single and binary-combined toxicity of methamidophos, acetochlor and copper acting on earthworms *Eisenia foelide*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71, 1158–1166. <https://doi.org/10.1007/s00128-003-0228-5>
  58. Lionetto, M.; Calisi, A.; Schettino, T. 2012. Earthworm biomarkers as tools for soil pollution assessment. *Soil Health and Land Use and Management*, 305–332.
  59. Lister, L; Svendsen, C; Wright, J; Hooper, H., Spurgeon, D. 2011. Modelling the joint effects of a metal and a pesticide on reproduction and toxicokinetics in Lumbricid earthworms. *Environment International*, 37(4), 663–670. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.01.006>
  60. Lydy, M.; Linck, S. (2003). Assessing the impact of triazine herbicides on organophosphate insecticide toxicity to the Earthworm *Eisenia fetida*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 343–349. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-0218-y>
  61. Manual de plaguicidas de Centroamérica. Consultado febrero del 2018. Disponible en <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu>
  62. Matthews, G. A. 2016. Pesticides: health, safety and the environment. 2<sup>nd</sup> edition. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201200111>
  63. Maund, S; Hamer, M; Lane, M.; Farrelly, E; Rapley, J.; Goggin, U.; Gentle, W. 2002. Partitioning, bioavailability, and toxicity of the pyrethroid insecticide cypermethrin in



- sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(1), 9–15.  
<https://doi.org/10.1002/etc.5620210102>
64. Marking, LL. 1977. Method for assessing additive toxicity of chemical mixtures. In Mayer FL, Hamelink JL, eds, *Aquatic toxicology and hazard evaluation*. ASTM STP 634, American Society for Testing and Materials, pp 99-108.
65. Méndez, N; Anguas-Cabrera, D; García-de la Parra, L. M. 2008. Effects of methamidophos on sediment processing and body mass of *Capitella sp.* y from Estero del Yugo, Mazatlán, Mexico. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 361(2), 92–97. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.05.002>
66. Montoro, Y; Moreno, R; Gomero, L; Reyes, M. 2009. Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la Sierra Central del Perú. *SciELO*, 4(4), 26–30. <https://doi.org/10.17843/RPMESP.2009.264.1409>
67. Morrison, D. E; Robertson, B. K; Alexander, M. 2000. Bioavailability to earthworms of aged DDT, DDE, DDD, and dieldrin in soil. *Environmental Science and Technology*, 34(4), 709–713. <https://doi.org/10.1021/es9909879>
68. Muangphra, P; Sengsai, S; Gooneratne, R. 2013. Earthworm Biomarker Responses on Exposure to Commercial Cypermethrin Ptumporn. *Environmental Toxicology*, 24(3), 296–303. <https://doi.org/10.1002/tox>
69. Navarro, S; Perez, G; Navarro, G; Vela, N. 2007. Decline of pesticide residues from barley to malt. *Food Addit. Contam.* 24(8): 851–859.
70. OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). 1984. *Guideline for the Testing of Chemicals No. 207. Earthworm Acute Toxicity Tests*. OECD, Paris, France.
71. OECD. 1989. *Organisation for Economic Co-operation and Development: Report of the OECD workshop on ecological effects assessment*. OECD Environment Monographs 26, Paris.
72. Peña, C. E; Carter, D.E; Ayala-Fierro, F. 2001. *Toxicología Ambiental: Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental*. Recuperado: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/>

73. Pelosi, C; Barot, S; Capowiez, Y; Hedde, M; Vandebulcke, F. 2014. Pesticides and earthworms. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(1), 199–228. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0151-z>
74. Pereira, J. L; Antunes, S.; Castro, B; Marques, C; Gonçalves, A; Gonçalves, F; Pereira, R. 2009. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: Commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology*, 18, 455–463. <https://doi.org/10.1007/s10646-009-0300-y>
75. PPDB (Pesticides Properties DataBase-Universidad de Hertfordshire). Consultado en Febrero 2018. Disponible en <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>
76. Piola, L; Fuchs, J; Oneto, M. L; Basack, S; Kesten, E; Casabé, N. 2013. Comparative toxicity of two glyphosate-based formulations to *Eisenia andrei* under laboratory conditions. *Chemosphere*, 91, 545–551. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.036>
77. Ragnarsdottir, K. V. 2000. Environmental fate and toxicology of organophosphate pesticides. *Journal of the Geological Society*, 157, 859–876. <https://doi.org/10.1144/jgs.157.4.859>
78. Ramírez Romero, P; Mendoza Cantú, A. 2008. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. México: SEMARNAT
79. Rathore, H; Nollet, L. 2012. Pesticides: Evaluation of Environmental pollution. (L. Taylor & Francis Group, Ed.) (3rd editio, Vol. 20). CRC Press.
80. Roubalová, R; Procházková, P; Dvo, J; Škanta, F; Bilej, M. 2015. The role of earthworm defense mechanisms in ecotoxicity studies. *Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Czech Republic*, 12, 203–213.
81. Chapagain, R. 2011. Regulación internacional del uso de pesticidas: la experiencia de Costa Rica. *Rev Costarr Salud Pública*, 20(20), 124–129.
82. Reinecke, S. A; Reinecke, A. J. 2007. The impact of organophosphate pesticides in orchards on earthworms in the Western Cape, South Africa. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 66, 244–251. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.10.006>
83. Roberts, B. L; Wyman Dorough, H. 1984. Relative toxicities of chemicals to the earthworm *Eisenia foetida*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 3, 67–78. <https://doi.org/10.1002/etc.5620030109>

84. Robidoux, P; Hawari, J; Thiboutot, S; Ampleman, G; Sunahara, G. 1999. Acute toxicity of 2,4,6-trinitrotoluene in earthworm (*Eisenia andrei*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44(3), 311–321. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1839>
85. Sanchez-Hernandez, J. 2011. Pesticides Biomarkers in terrestrial invertebrates. *InTech*. 213-240
86. Sanchez-Hernandez, J; Notario del Pino, J; Capowiez, Y; Mazzia, C; Rault, M. (2018). Soil enzyme dynamics in chlorpyrifos-treated soils under the influence of earthworms. *Science of the Total Environment*, 612, 1407–1416. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.043>
87. Sanyal, S; Kaviraj, A; Chakravorty, P. 2017. Response of enzyme biomarker and life-history parameters of epigeic earthworm *Perionyx excavatus* exposed to organophosphate pesticide, 5(3), 774–778.
88. Schaefer, M. 2003. Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology. *Journal of Soils and Sediments*, 3(2), 79–84. <https://doi.org/10.1007/BF02991072>
89. Sechi, V; D’Annibale, A; Maraldo, K; Johansen, A; Bossi, R; Jensen, J; Krogh, P. 2014. Species composition of a soil invertebrate multi-species test system determines the level of ecotoxicity. *Environmental Pollution*, 184, 586–596. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.008>
90. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). Plaguicidas agrícolas Restringidos y prohibidos en el Perú. Consultado en febrero 2018. Disponible en <https://www.senasa.gob.pe/senasa/plaguicidas-restringidos-y-prohibidos-en-el-peru/>
91. Ministerio de Agricultura (MINAGRI). Sistema Integrado de Gestión de Insumos Agrarios (SIGIA). En línea. Consultado en septiembre del 2017. Disponible en [https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/sigia\\_consulta\\_producto.html](https://servicios.senasa.gob.pe/SIGIAWeb/sigia_consulta_producto.html)
92. Stanley, J; Preetha, G. 2016. Pesticide toxicity to non-target organisms. *African Journal of Biotechnology* (Vol. 9). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7752-0>
93. Stenersen, J. 2004. Chemical Pesticides Mode of Action and Toxicology. <https://doi.org/10.1201/9780203646830>
94. Su, Z; Zhang, H; Li, X; Zhang, Q; Zhang, C. 2007. Toxic effects of acetochlor, methamidophos and their combination on nifH gene in soil. *Journal of Environmental Sciences*, 19(7), 864–873. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(07\)60144-2](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(07)60144-2)

95. Svobodová, M; Šmídová, K; Hvězdová, M; Hofman, J. 2018. Uptake kinetics of pesticides chlorpyrifos and tebuconazole in the earthworm *Eisenia andrei* in two different soils. *Environmental Pollution*, 236, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.082>
96. Tenório Nunes, M; Daam, M. A; Gaeta Espíndola, E. 2016. Survival, morphology and reproduction of *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) as affected by Vertimec®18 EC (a.i. abamectin) in tests performed under tropical conditions. *Applied Soil Ecology*, 100, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.023>
97. Travlos, I. S; Gkotsi, T; Roussis, I; Kontopoulou, C; Kakabouki, I; Bilalis, D. 2017. Effects of the herbicides benfluralin, metribuzin and propyzamide on the survival and weight of earthworms (*Octodrilus complanatus*). *Plant, Soil and Environment*, 63(3), 117–124. <https://doi.org/10.17221/811/2016-PSE>
98. TUKES (Finnish Safety and Chemicals Agency). Calculator for predicted environmental concentration in soils for plant protection products (PEC soil calculator). Consultado en setiembre del 2017. Disponible en <http://www.tukes.fi/pecsoilcalculator>
99. USEPA. (United State Environmental Agency). (1992). Framework for ecological risk assessment. USEPA, (February), 1–41. <https://doi.org/10.1897/1552-8618>
100. Utsumi, T; Miyamoto, M; Katagi, T. 2011. of Pesticides in Terrestrial. Environmental Health Science Laboratory, 2011–I, 1–19. Krishnani, K., Council, I., Infosys, S. A., & Krishnani, K. (2006). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Vol. 188). <https://doi.org/10.1007/978-0-387-32964-2>
101. Vila, I; Bahamonde, N. 1971. Sinopsis sobre la biología del camarón del Río del Norte (No. CIDAB-SH351-B3s). Servicio Agrícola y Ganadero. Departamento de Biología (Chile).
102. Vighi, M; Di Guardo, A. 1995. Predictive approaches for the evaluation of pesticide exposure. In: Vighi, M. and Funari, E. (eds), *Pesticide Risk in Groundwater*. pp. 73–85, CRC Press, Tampa, USA
103. Vighi, M; Bacci, E. 1998. La estima del rischio ambientale. En: *Ecotoxicología*. Vighi, M., Bacci, E., eds. UTET. Torin, pp. 205

104. Wang, L; Wang, L; Wang, L; Wang, G; Li, Z.H; Wang, J. 2009. Effect of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate on the wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environmental Toxicology*, 24, 296–303. <https://doi.org/10.1002/tox>
105. Wang, M; Liu, Y; Wang, Q; Gong, M; Hua, X; Pang, Y; Yang, Y. 2008. Impacts of methamidophos on the biochemical, catabolic, and genetic characteristics of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 778–788. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.012>
106. Wang, Y., Cang, T., Zhao, X., Yu, R., Chen, L., Wu, C., & Wang, Q. 2012. Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.12.016>
107. WHO. 2002. Guidelines to Classification 2000-2002, 1–58. Retrieved from [http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard/en/](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/)
108. Yadav, J., Yadav, J., Singh, D., Yadav, J., & Kumar, D. 2017. Organophosphates and carbamates as inhibitors of acetylcholinesterase in *Eisenia fetida*, (January).
109. Yang, G., Chen, C., Wang, Y., Peng, Q., Zhao, H., Guo, D., ... Qian, Y. 2017. Mixture toxicity of four commonly used pesticides at different effect levels to the epigeic earthworm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142, 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.037>
110. Yao, G.; Xu J.; Wang P.; Liu, X.; Zhou Z.; Liu, D. 2015. Chiral Insecticide  $\alpha$ -Cypermethrin and Its Metabolites: Stereoselective Degradation Behavior in Soils and the Toxicity to Earthworm *Eisenia fetida*. *J. Agric.*(63), 7714–7720. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03148>
111. Yasmin, S., & D'Souza, D. 2010. Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review. *Applied and Environmental Soil Science*, 2010, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2010/678360>
112. Yeardley, R. B., Lazorchak, J. M., & Pence, M. A. (1995). Evaluation of alternative reference toxicants for use in the earthworm toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14(7), 1189–1194. <https://doi.org/10.1002/etc.5620140710>

113. Yengle, M; Palhua, R; Lescano, P; Villanueva, E; Chachi, E; Yana, E; Zavarria, R. 2008. Prácticas de utilización de plaguicidas en agricultores en el distrito de Huaral-Perú, noviembre 2005. *Revista Peruana de Epidemiología*, 12(1), 6.
114. Zaballos, J; García, A. 2009. Modelos adaptativos en Zoología (Manual de prácticas) 9. Estudio anatómico y funcional de un anélido y un crustáceo. *Reduca (Biología). Serie Zoología*, 2(2), 126–141.
115. Zhou, Q; Wang, M; Liang, J. 2008a. Ecological detoxification of methamidophos by earthworms in phaeozem co-contaminated with acetochlor and copper. *Applied Soil Ecology*, 40, p. 138–145.
116. Zhou, Q.X; Zhang, Q.R; Liang, J. 2006. Toxic effects of acetochlor and methamidophos on earthworms *Eisenia fetida* in phaeozem, northeast China. *Journal of Environmental Science*, 18, 741-745.
117. Zhou, S; Duan, C; Fu, H; Chen, Y; Wang, X; Yu, Z. 2007. Toxicity assessment for chlorpyrifos-contaminated soil with three different earthworm test methods, 19, 854–858.
118. Zhou, S; Duan, C; Wang, X; Michelle, W.; Yu, Z; Fu, H. (2008b). Assessing cypermethrin-contaminated soil with three different earthworm test methods. *Journal of Environmental Sciences*, 20, 1381–1385. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62236-6](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62236-6)

## **VIII. ANEXOS**

Los anexos contienen firmas y datos  
personales, favor de consultar el ejemplar  
impreso disponible en la Sala Tesis de la  
Biblioteca Agrícola Nacional - UNALM



**ANEXO 1: Guía 207: “Earthworm, Acute Toxicity Tests” (OECD, 1984)**

**"Earthworm, Acute Toxicity Tests"****1. INTRODUCTORY INFORMATION**• Prerequisites

- Water solubility
- Vapour pressure

• Guidance information

- Structural formula
- Purity of the test substance
- Chemical stability in water, soil and light
- n-Octanol/water partition coefficient
- Results of a ready biodegradability test (see Test Guideline 301)

• Qualifying statement

This Test Guideline can be used for substances that are either insoluble or soluble in water, although the method of application differs.

• Standard documents

There are no relevant international standards.

**2. METHOD****A. INTRODUCTION, PURPOSE, SCOPE, RELEVANCE,  
APPLICATION AND LIMITS OF TEST**

There are many methods of testing toxicity of chemicals to earthworms, including spot application, forced feeding and immersion tests. This Test Guideline includes two kinds of tests: a paper contact toxicity test and an artificial soil test.

A simple paper contact toxicity test is described as an optional initial screen to indicate those substances likely to be toxic to earthworms in soil and which will require further more detailed testing in an artificial soil.

---

## "Earthworm, Acute Toxicity Tests"

The simple contact test is easy to perform and gives reproducible results with the recommended species. The artificial soil test gives toxicity data more representative of natural exposure of earthworms to chemicals.

- Definitions and units

LC50 in this Test Guideline is the median lethal concentration i.e. that concentration of the test substance which kills 50 per cent of the test animals within the test period.

For the contact test the concentration of the test substance is expressed in mg/cm<sup>2</sup>. For the artificial soil test it is expressed in mg/kg (dry weight).

- Reference substances

The LC50 of a reference substance should be determined occasionally as a means of assuring that the laboratory test conditions are adequate and have not changed significantly. A suitable reference substance is chloracetamide.

- Principle of the test method

The screening test (filter paper contact test) involves exposing earthworms to test substances on moist filter paper in order to identify potentially toxic chemicals to earthworms in soil.

The artificial soil test involves keeping earthworms in samples of a precisely defined artificial soil to which a range of concentrations of the test substance has been applied. Mortality is assessed 7 and 14 days after application.

One concentration resulting in no mortality and one resulting in total mortality should be used.

- Conditions for the validity of the test

The mortality in the controls should not exceed 10 per cent at the end of either test.

---

## "Earthworm, Acute Toxicity Tests"

### B. DESCRIPTION OF THE TEST PROCEDURE

#### • Preparations

##### *Equipment and materials*

Normal laboratory equipment and especially the following equipment and materials are necessary:

- Earthworm cultures (see Experimental animals, below)
- Filter paper: 80 to 85 g/m<sup>2</sup>, approximately 0.2 mm thick, medium grade
- *Artificial soil test substrate*, for example, as follows:

10 per cent sphagnum peat (as close to pH 5.5 to 6.0 as possible, no visible plant remains, finely ground, dried to measured moisture content)

20 per cent kaolin clay (kaolinite content preferably above 30 per cent)

70 per cent industrial sand (fine sand should be dominant with more than 50 per cent of the particles between 50 and 200 microns)

pH is adjusted to  $6.0 \pm 0.5$  by addition of calcium carbonate [see reference (6)]

The dry constituents are blended in the correct proportions and mixed thoroughly, either in a large-scale laboratory mixer or small electric cement mixer. Moisture content is then determined by drying a small sample at 105°C and re-weighing. Deionised water is added to give an overall moisture content of about 35 per cent of the dry weight, and the medium is thoroughly mixed. The complete mixture should be moist but not so wet that water appears when the artificial soil is compressed. With some peats a moisture content of over 35 per cent may be suitable.

---

## "Earthworm, Acute Toxicity Tests"

- All glass test containers, i.e. crystallising dishes or spoutless beakers, of approximately one litre covered with glass lids or perforated plastic film
- An illuminated cabinet or chamber controllable to  $\pm 2^{\circ}\text{C}$  with a light intensity of 400 to 800 lux.

- Experimental animals

### *Selection of species*

The recommended test species is *Eisenia foetida* (Michaelsen). Although this is not a typical soil species, it occurs in soil rich in organic matter. Its susceptibility to chemicals resembles that of true soil-inhabiting species, it has a short life cycle, hatching from cocoons in 3 to 4 weeks, and reaching maturity in seven to eight weeks at  $20^{\circ}\text{C}$ . It is very prolific, each worm producing two to five cocoons per week from each of which emerge several worms. It is available commercially and can be bred readily in a wide range of organic waste materials. Cocoons can be purchased commercially or distributed from a central source to ensure the same strain is used (see Annex).

*Eisenia foetida* exists in two races which some taxonomists have separated into species [see referene (1)]. These are morphologically similar, but one, *E. foetida foetida*, has a typically transverse striping or banding on the segments and the other, *E. foetida andrei*, lacks this and has a variegated reddish colour. Where possible *E. foetida foetida* should be used. Other species may be used if the necessary methodology is available.

Worms should be adult (at least two months old with clitellum) with an individual weight of 300 to 600 mg.

- Performance of the test

### *Filter paper test*

Flat-bottomed glass vials approximately 8 cm in length and 3 cm in diameter are recommended. Their sides are lined with filter paper cut to a suitable size so it does not overlap appreciably.

---

## "Earthworm, Acute Toxicity Tests"

The test substance is dissolved in water (if soluble up to a concentration of 1000 mg/l) or in a suitable organic solvent (e.g. acetone, hexane or chloroform), as appropriate, to give a range of known concentrations. One ml of solution is pipetted into each vial and evaporated to dryness under a slow stream of filtered compressed air, the vial being rotated horizontally as it dries (for substances that are relatively insoluble in either water or organic solvents this may have to be repeated several times to obtain the larger deposits required). The control vial should be treated with 1 ml of deionised water or appropriate organic solvent. After drying, 1 ml of deionised water is added to each vial to moisten the filter paper. Each vial is sealed with a cap or plastic film with a small ventilation hole.

A preliminary range-finding test may be done optionally prior to a more precise screening test. This could be done as follows:

Amount applied to filter paper	Concentration of solution applied
1.0 mg/cm <sup>2</sup>	$7 \times 10^{-2}$ g/ml
0.1 mg/cm <sup>2</sup>	$7 \times 10^{-3}$ g/ml
0.01 mg/cm <sup>2</sup>	$7 \times 10^{-4}$ g/ml
0.001 mg/cm <sup>2</sup>	$7 \times 10^{-5}$ g/ml
0.0001 mg/cm <sup>2</sup>	$7 \times 10^{-6}$ g/ml

For the main screening test five or more treatment levels in a geometric series should be used.

For each treatment, ten replicates, each consisting of one worm per vial, are the minimum requirement. More than one worm in a vial should not be used because the death of one worm may have adverse effects on others in the same vial. The precision of the test can be increased by using 20 replicates. In each test a range of treatment levels and ten control vials are used.

Worms should be kept on moist filter paper for three hours before being placed in test vials so they can void their gut contents. They are then washed and dried before use.

During the test, vials are laid on their sides on trays. The test temperature is  $20^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ . Tests are done in the dark and for a period of 48 hours with a further optional mortality assessment after 72 hours.

---

## "Earthworm, Acute Toxicity Tests"

Worms are classified as dead when they do not respond to a gentle mechanical stimulus to the front end. Any behavioural or pathological symptoms should be reported.

### *Artificial soil test*

A preliminary range-finding test before a more precise main test is optional here as well. It could be based on treatments in the range 0.01, 0.1, 1.0, 10, 100, 1000 mg/kg (dry weight of artificial soil). For the test proper, five concentrations in a geometric series are used.

The artificial soil plus test substance should, whenever possible, be made up as follows: immediately before the start of the test, an emulsion or dispersion of the test substance in deionised water is mixed with the artificial soil or sprayed evenly over it with a fine chromatographic or similar spray. If insoluble in water, the test substance can be dissolved in as small a volume as possible of a suitable organic solvent (e.g. hexane, acetone or chloroform). The solvent should be allowed to evaporate. If the test substance is not soluble, dispersible or emulsifiable, 10 g of a mixture of fine ground quartz sand and quantity of test substance corresponding to 750 g wet weight of artificial soil are mixed with 740 g wet artificial soil for each test container. Only agents which volatilise readily may be used to solubilise, disperse or emulsify the test substance. The test medium must be ventilated before use. The amount of water evaporated should be replaced. The control should receive the same quantity of any additive agent.

For each test, 750 g weight of the test medium is placed into each glass container and ten earthworms, which have been conditioned for 24 hours in an artificial soil and then washed quickly before use, are placed on the test medium surface. The containers are covered with perforated plastic film to prevent the test medium from drying and kept under the test conditions for 14 days.

Four replicates for each treatment are recommended.

For each test, four control dishes, treated with the same solvent as that used in the test and containing ten worms, are used.

---

## "Earthworm, Acute Toxicity Tests"

The test duration is 14 days (assessment of mortality at 7 and 14 days), and the test temperature is  $20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Testing is done in continuous light (to ensure that worms remain in the test medium throughout duration of test).

The mortality is assessed by emptying test medium onto a glass tray or plate, sorting worms from the medium and testing their reaction to a mechanical stimulus at the front end. After the 7-day assessment worms and medium are replaced in the test container. Any behavioural or pathological symptoms noted should be reported.

At the end of the test the moisture content of the test medium should be assessed and reported.

### **3. DATA AND REPORTING**

#### • Treatment of results

The mortality/concentration data should be plotted on log probability graph paper and the median lethal concentration (LC50) and its confidence limits estimated (see reference 3). Other methods of probit analysis are also acceptable.

When two consecutive concentrations in a geometric series (at a ratio of at most 2.0) result in 0 and 100 per cent mortality, these two values are sufficient to indicate the range within which the LC50 falls.

#### • Test report

The test report should include the following information:

Test substance: chemical identification data, method of application

Test animals: age, keeping and breeding conditions, source of supply

Test conditions: description and details of any variation of test materials and recommended conditions

Information on preparation of the test medium.



## Results:

- average live weight and number of live worms per treatment at start and end of test
- description of obvious physical or pathological symptoms or distinct changes in behaviour observed in the test organisms
- method used to determine the LC50 quoting all data used and test results
- graph showing concentration/effect curve
- mortality in control animals
- mortality with reference and test substance
- LC50 and all data used to calculate it
- moisture content of artificial soil at start and at end of test, pH value at start of test
- the highest concentration causing no mortality
- the lowest concentration causing 100 per cent mortality.

**4. L I T E R A T U R E**

1. M.B. Bouché, *Lombriciens de France, Ecologie et Systématique*. Publ. Institut National de la Recherche Agronomique (1972).
2. C.A. Edwards and J.R. Lofty, *Biology of Earthworms*, 2nd Edition, Chapman and Hall, London (1977).
3. J.T. Litchfield and F. Wilcoxon, *Journal of Pharmacol. Exper. Ther.* 96. 99-113 (1949).
4. C.E. Stephan, in *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation* (edited by F.L. Mayer and J.L. Hamelink) pp. 66-84, ASTM STP 634, American Society for Testing and Materials (1977).
5. C.A. Edwards, *Development of a Standardized Laboratory Method for Assessing the Toxicity of Chemical Substances to Earthworms*, Report EUR 8714EN, Commission of the European Communities (1983).

---

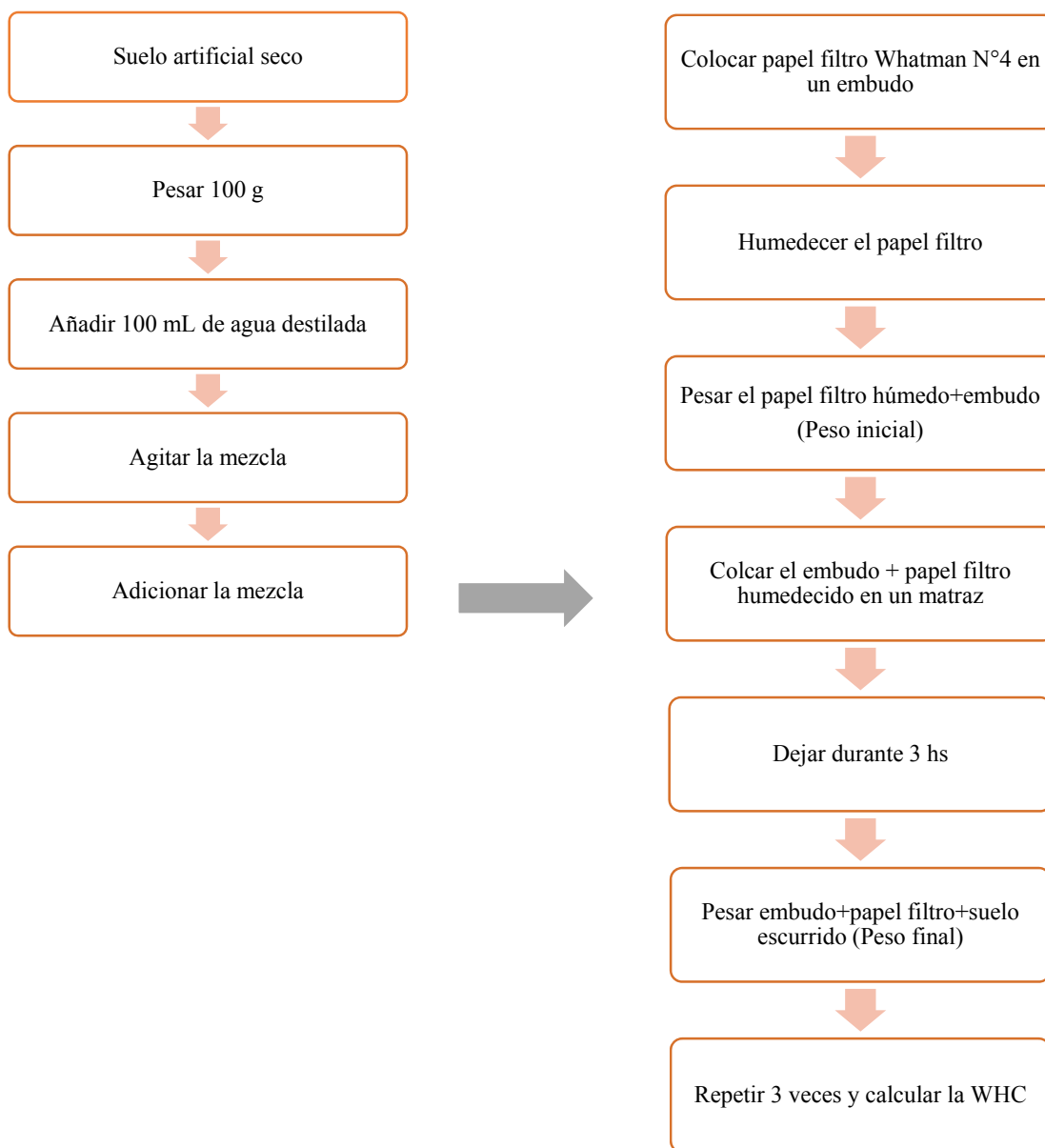
**"Earthworm, Acute Toxicity Tests"**

6. *The Analysis of Agricultural Materials*, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Reference Book 427, HMSO, London (1981).

**5. A N N E X****BREEDING OF TEST ORGANISMS**

*Eisenia foetida* can be bred in a wide range of animal wastes. The recommended breeding medium is a 50:50 mixture of horse or cattle manure and peat, but other animal wastes are also suitable. The medium should be of pH about 7.0, have low ionic conductivity (less than 6.0 milli-Siemens) and not be contaminated excessively with ammonia or animal urine. Wooden breeding boxes of about 50 x 50 x 15 cm with tightly fitting lids are ideal for large-scale breeding and can produce more than 1000 worms in six weeks. To produce sufficient worms, such a medium will support up to 1 kg worms in 20 kg waste and each worm will weigh up to 1 g. To obtain worms of standard age and weight, it is best to start the culture with cocoons which take three to four weeks to hatch and seven to eight weeks to become mature worms at 20°C.

**ANEXO 2: Metodología de determinación de la capacidad de retención de agua  
(WHC)**



FUENTE: adaptado de (Environmental Technology Centre, 2007).

**ANEXO 3: Resultados de la caracterización de suelo artificial y suelo agrícola**

## METODOS SEGUIDOS EN EL ANALISIS DE SUELOS

1. Textura de suelo: % de arena, limo y arcilla: método del hidrómetro.
2. Salinidad: medida de la conductividad eléctrica (CE) del extracto acuoso en la relación suelo: agua 1:1 o en el extracto de la pasta de saturación(es).
3. PH: medida en el potenciómetro de la suspensión suelo: agua relación 1:1 ó en suspensión suelo: KCl N, relación 1:2.5.
4. Calcareo total (CaCO<sub>3</sub>): método gaso-volumétrico utilizando un calcímetro.
5. Materia orgánica: método de Walkley y Black, oxidación del carbono orgánico con dicromato de potasio. %M.O. = %Cx1.724.
6. Nitrogeno total: método del micro-Kjeldahl.
7. Fósforo disponible: método del Olsen modificado, extracción con NaHCO<sub>3</sub>=0.5M, pH 8.5
8. Potasio disponible: extracción con acetato de amonio (CH<sub>3</sub> - COONH<sub>4</sub>)N, pH 7.0
9. Capacidad de intercambio catiónico (CIC): saturación con acetato de amonio (CH<sub>3</sub> - COOCH<sub>3</sub>)N, pH 7.0
10. Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> cambiables: reemplazamiento con acetato de amonio

### TABLA DE INTERPRETACION

Clasificación del Suelo	CE(es)	CLASIFICACIÓN	Materia Orgánica		Fósforo	Potasio	Relaciones Catiónicas
			%	ppm P	disponible	disponible	
*muy ligeramente salino	<2	*bajo	<2.0	<7.0			Clasificación
*ligeramente salino	2 - 4	*medio	2 - 4	7.0 - 14.0			*Normal
*moderadamente salino	4 - 8	*alto	>4.0	>14.0			*defc. Mg
*fuertemente salino	>8						*defc. K
							*defc. Mg

#### Reacción o pH

Clasificación del Suelo	pH
*fuertemente ácido	<5.5
*moderadamente ácido	5.6 - 6.0
*ligeramente ácido	6.1 - 6.5
*neutro	6.6 - 7.0
*ligeramente alcalino	7.1 - 7.8
*moderadamente alcalino	7.9 - 8.4
*fuertemente alcalino	>8.5

#### CLASES TEXTURALES

A	=	arena	Fr.Ar.A	=	franco arcillo arenoso
A.Fr	=	arena franca	Fr.Ar	=	franco arcilloso
Fr.A	=	franco arenoso	Fr.Ar.L	=	franco arcilloso limoso
Fr.	=	franco	Ar.A	=	arcilloso arenoso
Fr.L	=	franco limoso	Ar.L	=	arcilloso limoso
L	=	limoso	Ar.	=	arcilloso

#### Distribución de Cationes %

Ca <sup>2+</sup>	=	60 - 75
Mg <sup>2+</sup>	=	15 - 20
K <sup>+</sup>	=	3 - 7
Na <sup>+</sup>	=	<15

#### Equivalencias:

- 1 ppm = 1 mg/kilogramo
- 1 mililimo (mmho/cm) = 1 deciSiemens/metro
- 1 miliequivalente / 100 g = 1 cmol(+)/kg
- Sales solubles totales (TDS) en ppm ó mg/kg = 640 x CEes
- CE (1 : 1) mmho/cm x 2 = CE(es) mmho/cm

(CH<sub>3</sub> - COONH<sub>4</sub>)N; pH 7.0 cuantificación por fotometría de llama y/o absorción atómica.

11. Al<sup>3+</sup> + H<sup>+</sup>: método de Yuan. Extracción con KCl, N

12. Iones solubles:

- a) Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> solubles: fotometría de llama y/o absorción atómica
- b) Cl, Co<sub>3</sub>=, HCO<sub>3</sub>=, NO<sub>3</sub> solubles: volumetría y colorimetría. SO<sub>4</sub> turbidimetría con cloruro de Bario.
- c) Boro soluble: extracción con agua, cuantificación con curcumina.
- d) Yeso soluble: solubilización con agua y precipitación con acetona

**ANEXO 4: Informe de ensayo analítico de suelo agrícola A y suelo agrícola B**

Nº de Referencia: S-17/032012  
 Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA  
 Fecha Fin: 09/10/2017

## RESULTADOS ANALITICOS

Parámetro	Resultado	Incert	Unidades	CMA
<b>Plaguicidas</b>				
Alacloro	< 0,004	-	mg/kg PS	
Alfa-HCH	< 0,005	-	mg/kg PS	
Ametrina	< 0,014	-	mg/kg PS	
Atrazina	< 0,010	-	mg/kg PS	
Benalaxil (SP)	< 0,013	-	mg/kg PS	
Beta-HCH	< 0,005	-	mg/kg PS	
Cipermetrina	< 0,077	-	mg/kg PS	
Ciproconazol	< 0,007	-	mg/kg PS	
Clordano Cis	< 0,005	-	mg/kg PS	
Clordano Trans	< 0,005	-	mg/kg PS	
Clorfenvinfos	< 0,009	-	mg/kg PS	
* Clorpirifos	0,011	-	mg/kg PS	
* Clortal Dimetil	< 0,005	-	mg/kg PS	
Delta-HCH	< 0,005	-	mg/kg PS	
Diclorvos	< 0,018	-	mg/kg PS	
Dieldrin (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
* Diflufenicán	< 0,011	-	mg/kg PS	
Dimetoato (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endosulfan Alfa	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endosulfan Beta	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endosulfan Sulfato	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endrin	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endrin Aldehido	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endrin Cetona	< 0,005	-	mg/kg PS	
EPTC	< 0,005	-	mg/kg PS	
Etion	< 0,017	-	mg/kg PS	
* Etoprofos	< 0,005	-	mg/kg PS	
Fenamifos (SP)	< 0,018	-	mg/kg PS	
Flusilazol	< 0,008	-	mg/kg PS	
Heptacloro (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
Heptacloro Epóxido (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
Hexaclorobenceno	< 0,011	-	mg/kg PS	
Lindano	< 0,004	-	mg/kg PS	
* Malation (SP)	< 0,014	-	mg/kg PS	
Metalaxil (SP)	< 0,013	-	mg/kg PS	
* Metamidofos	< 0,073	-	mg/kg PS	
Metidati3n	< 0,017	-	mg/kg PS	
Metoxicloro	< 0,005	-	mg/kg PS	
Metribuzina	0,013	-	mg/kg PS	
Miclobutanil	< 0,018	-	mg/kg PS	
Mirex	< 0,035	-	mg/kg PS	
Molinato	< 0,114	-	mg/kg PS	

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificaci3n de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Nº de Referencia: S-17/032012

Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA

Fecha Fin: 09/10/2017

Parámetro	Resultado	Incert	Unidades	CMA
<b>Plaguicidas</b>				
o,p-DDT	< 0,010	-	mg/kg PS	
Oxifluorén	< 0,012	-	mg/kg PS	
p,p-DDD	< 0,005	-	mg/kg PS	
p,p-DDE	< 0,005	-	mg/kg PS	
p,p-DDT	0,007	-	mg/kg PS	
Paration Etil	< 0,007	-	mg/kg PS	
Paration Metil (SP)	< 0,010	-	mg/kg PS	
Pendimetalina	< 0,010	-	mg/kg PS	
Pentaclorobenceno	< 0,005	-	mg/kg PS	
* Piridabén	< 0,016	-	mg/kg PS	
Pirimetanil	< 0,006	-	mg/kg PS	
Prometrina	< 0,016	-	mg/kg PS	
Propizamida	< 0,010	-	mg/kg PS	
Simazina	< 0,005	-	mg/kg PS	
Terbutilazina	< 0,060	-	mg/kg PS	
Terbutrin	< 0,019	-	mg/kg PS	
Tetradifón	< 0,025	-	mg/kg PS	
Triclorfon	< 0,018	-	mg/kg PS	
Vinclozolina (SP)	< 0,010	-	mg/kg PS	

Nota: Los Resultados de este informe solo afectan a la muestra tal como es recibida en el laboratorio. Queda prohibida la reproducción parcial de este informe sin la aprobación por escrito del laboratorio. Las incertidumbres están recogidas en el anexo técnico adjunto. Si aparece marca de acreditación, los parámetros marcados con asterisco (\*) no están incluidos en el Alcance de Acreditación. El cliente proporciona todos los datos asociados a la Toma de Muestras, cuando esta ha sido realizada por él. A: Ensayo subcontratado y acreditado. N: Ensayo subcontratado y no acreditado. RE: Recuento en placa estimado



Nº de Referencia: S-17/032012

Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA

Fecha Fin: 09/10/2017

## ANEXO TECNICO

Parámetro	PNT	Técnica	Ref Norma	Rango
<b>Plaguicidas</b>				
Alacloro	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,004 - 10,0 mg/kg PS
Alfa-HCH	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Ametrina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,014 - 10,0 mg/kg PS
Atrazina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Benalaxil (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,013 - 10,0 mg/kg PS
Beta-HCH	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Cipermetrina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,077 - 10,0 mg/kg PS
Ciproconazol	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,007 - 10,0 mg/kg PS
Clordano Cis	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Clordano Trans	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Clorfenvinfos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,009 - 10,0 mg/kg PS
* Clorpirifos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,004 - 10,0 mg/kg PS
* Clortal Dimetil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Delta-HCH	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Diclorvos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS
Dieldrin (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
* Diflufenicán	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,011 - 10,0 mg/kg PS
Dimetoato (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endosulfan Alfa	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endosulfan Beta	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endosulfan Sulfato	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endrin	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endrin Aldehido	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endrin Cetona	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
EPTC	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Etion	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,017 - 10,0 mg/kg PS
* Etoprofos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Fenamifos (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Nº de Referencia: S-17/032012

Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA

Fecha Fin: 09/10/2017

Parámetro	PNT	Técnica	Ref Norma	Rango
<b>Plaguicidas</b>				
Flusilazol	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,008 - 10,0 mg/kg PS
Heptacloro (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Heptacloro Epóxido (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Hexaclorobenceno	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,011 - 10,0 mg/kg PS
Lindano	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,004 - 10,0 mg/kg PS
* Malation (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,014 - 10,0 mg/kg PS
Metalaxil (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,013 - 10,0 mg/kg PS
* Metamidofos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,073 - 10,0 mg/kg PS
Metidatión	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,017 - 10,0 mg/kg PS
Metoxicloro	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Metribuzina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,009 - 10,0 mg/kg PS
Miclobutanil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS
Mirex	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,035 - 10,0 mg/kg PS
Molinato	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,114 - 10,0 mg/kg PS
o,p-DDT	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Oxifluorén	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,012 - 10,0 mg/kg PS
p,p-DDD	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
p,p-DDE	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
p,p-DDT	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Paration Etil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,007 - 10,0 mg/kg PS
Paration Metil (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Pendimetalina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Pentaclorobenceno	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
* Piridabén	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,016 - 10,0 mg/kg PS
Pirimetaniil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,006 - 10,0 mg/kg PS
Prometrina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,016 - 10,0 mg/kg PS
Propizamida	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 2,00 mg/kg PS
Simazina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Terbutilazina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,060 - 10,0 mg/kg PS

(1) El rango mínimo se corresponde con el límite de Determinación, a partir del cual cuantificamos.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Nº de Referencia: S-17/032012  
 Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA  
 Fecha Fin: 09/10/2017

Parámetro	PNT	Técnica	Ref Norma	Rango
<b>Plaguicidas</b>				
Terbutrin	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,019 - 10,0 mg/kg PS
Tetradifón	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,025 - 10,0 mg/kg PS
Triclorfon	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS
Vinclozolina (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS

Los parámetros marcados con asterisco (\*) no estan incluidos en el Alcance de Acreditación.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Nº de Referencia: S-17/032013  
 Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA  
 Fecha Fin: 09/10/2017

## RESULTADOS ANALITICOS

Parámetro	Resultado	Incert	Unidades	CMA
<b>Plaguicidas</b>				
Alacloro	< 0,004	-	mg/kg PS	
Alfa-HCH	< 0,005	-	mg/kg PS	
Ametrina	< 0,014	-	mg/kg PS	
Atrazina	< 0,010	-	mg/kg PS	
Benalaxil (SP)	< 0,013	-	mg/kg PS	
Beta-HCH	< 0,005	-	mg/kg PS	
Cipermetrina	< 0,077	-	mg/kg PS	
Ciproconazol	< 0,007	-	mg/kg PS	
Clordano Cis	< 0,005	-	mg/kg PS	
Clordano Trans	< 0,005	-	mg/kg PS	
Clorfenvinfos	< 0,009	-	mg/kg PS	
* Clorpirifos	0,008	-	mg/kg PS	
* Clortal Dimetil	< 0,005	-	mg/kg PS	
Delta-HCH	< 0,005	-	mg/kg PS	
Diclorvos	< 0,018	-	mg/kg PS	
Dieldrin (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
* Diflufenicán	< 0,011	-	mg/kg PS	
Dimetoato (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endosulfan Alfa	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endosulfan Beta	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endosulfan Sulfato	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endrin	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endrin Aldehido	< 0,005	-	mg/kg PS	
Endrin Cetona	< 0,005	-	mg/kg PS	
EPTC	< 0,005	-	mg/kg PS	
Etion	< 0,017	-	mg/kg PS	
* Etoprofos	< 0,005	-	mg/kg PS	
Fenamifos (SP)	< 0,018	-	mg/kg PS	
Flusilazol	< 0,008	-	mg/kg PS	
Heptacloro (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
Heptacloro Epóxido (SP)	< 0,005	-	mg/kg PS	
Hexaclorobenceno	< 0,011	-	mg/kg PS	
Lindano	< 0,004	-	mg/kg PS	
* Malation (SP)	< 0,014	-	mg/kg PS	
Metalaxil (SP)	< 0,013	-	mg/kg PS	
* Metamidofos	< 0,073	-	mg/kg PS	
Metidati3n	< 0,017	-	mg/kg PS	
Metoxicloro	< 0,005	-	mg/kg PS	
Metribuzina	< 0,009	-	mg/kg PS	
Miclobutanil	< 0,018	-	mg/kg PS	
Mirex	< 0,035	-	mg/kg PS	
Molinato	< 0,114	-	mg/kg PS	

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificaci3n de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Nº de Referencia: S-17/032013

Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA

Fecha Fin: 09/10/2017

Parámetro	Resultado	Incert	Unidades	CMA
<b>Plaguicidas</b>				
o,p-DDT	< 0,010	-	mg/kg PS	
Oxifluorén	< 0,012	-	mg/kg PS	
p,p-DDD	< 0,005	-	mg/kg PS	
p,p-DDE	< 0,005	-	mg/kg PS	
p,p-DDT	0,006	-	mg/kg PS	
Paration Etil	< 0,007	-	mg/kg PS	
Paration Metil (SP)	< 0,010	-	mg/kg PS	
Pendimetalina	< 0,010	-	mg/kg PS	
Pentaclorobenceno	< 0,005	-	mg/kg PS	
* Piridabén	< 0,016	-	mg/kg PS	
Pirimetanil	< 0,006	-	mg/kg PS	
Prometrina	< 0,016	-	mg/kg PS	
Propizamida	< 0,010	-	mg/kg PS	
Simazina	< 0,005	-	mg/kg PS	
Terbutilazina	< 0,060	-	mg/kg PS	
Terbutrin	< 0,019	-	mg/kg PS	
Tetradifón	< 0,025	-	mg/kg PS	
Triclorfon	< 0,018	-	mg/kg PS	
Vinclozolina (SP)	< 0,010	-	mg/kg PS	

Nota: Los Resultados de este informe solo afectan a la muestra tal como es recibida en el laboratorio. Queda prohibida la reproducción parcial de este informe sin la aprobación por escrito del laboratorio. Las incertidumbres están recogidas en el anexo técnico adjunto. Si aparece marca de acreditación, los parámetros marcados con asterisco (\*) no están incluidos en el Alcance de Acreditación. El cliente proporciona todos los datos asociados a la Toma de Muestras, cuando esta ha sido realizada por él. A: Ensayo subcontratado y acreditado. N: Ensayo subcontratado y no acreditado. RE: Recuento en placa estimado

Nº de Referencia: S-17/032013

Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA

Fecha Fin: 09/10/2017

## ANEXO TECNICO

Parámetro	PNT	Técnica	Ref Norma	Rango
<b>Plaguicidas</b>				
Alacloro	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,004 - 10,0 mg/kg PS
Alfa-HCH	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Ametrina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,014 - 10,0 mg/kg PS
Atrazina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Benalaxil (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,013 - 10,0 mg/kg PS
Beta-HCH	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Cipermetrina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,077 - 10,0 mg/kg PS
Ciproconazol	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,007 - 10,0 mg/kg PS
Clordano Cis	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Clordano Trans	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Clorfenvinfos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,009 - 10,0 mg/kg PS
* Clorpirifos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,004 - 10,0 mg/kg PS
* Clortal Dimetil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Delta-HCH	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Diclorvos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS
Dieldrin (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
* Diflufenicán	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,011 - 10,0 mg/kg PS
Dimetoato (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endosulfan Alfa	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endosulfan Beta	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endosulfan Sulfato	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endrin	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endrin Aldehido	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Endrin Cetona	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
EPTC	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Etion	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,017 - 10,0 mg/kg PS
* Etoprofos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Fenamifos (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

Nº de Referencia: S-17/032013

Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA

Fecha Fin: 09/10/2017

Parámetro	PNT	Técnica	Ref Norma	Rango
<b>Plaguicidas</b>				
Flusilazol	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,008 - 10,0 mg/kg PS
Heptacloro (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Heptacloro Epóxido (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Hexaclorobenceno	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,011 - 10,0 mg/kg PS
Lindano	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,004 - 10,0 mg/kg PS
* Malation (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,014 - 10,0 mg/kg PS
Metalaxil (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,013 - 10,0 mg/kg PS
* Metamidofos	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,073 - 10,0 mg/kg PS
Metidatión	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,017 - 10,0 mg/kg PS
Metoxicloro	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Metribuzina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,009 - 10,0 mg/kg PS
Miclobutanil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS
Mirex	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,035 - 10,0 mg/kg PS
Molinato	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,114 - 10,0 mg/kg PS
o,p-DDT	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Oxifluorén	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,012 - 10,0 mg/kg PS
p,p-DDD	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
p,p-DDE	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
p,p-DDT	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Paration Etil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,007 - 10,0 mg/kg PS
Paration Metil (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Pendimetalina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS
Pentaclorobenceno	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
* Piridabén	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,016 - 10,0 mg/kg PS
Pirimetaniil	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,006 - 10,0 mg/kg PS
Prometrina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,016 - 10,0 mg/kg PS
Propizamida	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 2,00 mg/kg PS
Simazina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,005 - 10,0 mg/kg PS
Terbutilazina	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,060 - 10,0 mg/kg PS

(1) El rango mínimo se corresponde con el límite de Determinación, a partir del cual cuantificamos.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

# INFORME DE ENSAYO



Nº de Referencia: S-17/032013  
 Descripción: SU-1

Tipo Muestra: SUELOS MA  
 Fecha Fin: 09/10/2017

Parámetro	PNT	Técnica	Ref Norma	Rango
<b>Plaguicidas</b>				
Terbutrin	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,019 - 10,0 mg/kg PS
Tetradifón	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,025 - 10,0 mg/kg PS
Triclorfon	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,018 - 10,0 mg/kg PS
Vinclozolina (SP)	EPA Method 8270 D Rev. 4 (2007)	Cromatog CG/MS-MS		0,010 - 10,0 mg/kg PS

Los parámetros marcados con asterisco (\*) no estan incluidos en el Alcance de Acreditación.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como un certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.



**ANEXO 5: Ficha técnica del compuesto formulado MATADOR 600 SL**

### 1. GENERALIDADES :

a) Nombre comercial	:	MATADOR <sup>®</sup> 600 SL
b) Ingrediente activo	:	Metamidophos
c) Nombre químico	:	O,S – dimethyl phosphoroamidothioate
d) Clase de uso	:	Insecticida
e) Grupo	:	Organo fosforado
f) Formulación	:	Concentrado soluble
g) Composición química:	:	Methamidophos.....600 g/L Aditivos.....570 g/L

### 2. PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS:

a) Aspecto	:	Líquido translúcido
b) Color	:	Incoloro
c) Olor	:	Pungente
d) Estabilidad en almacén :	:	Es estable como mínimo durante 24 meses almacenado en envases originales y un ambiente fresco y seco.
e) Densidad	:	1,20 – 1.30 g/ml (20 – 25 °C)
f) Corrosividad	:	No corrosivo
g) Inflamabilidad	:	Inflamable
h) Compatibilidad	:	Es compatible con la mayoría de plaguicidas y fertilizantes foliares de uso común, exceptuando los de reacción alcalina.
i) pH	:	2.0 - 4.5

### 3. TOXICOLOGÍA :

a) DL50 oral aguda	:	20 mg/kg (En ratas)
DL50 dermal	:	410 mg/kg (En conejos)
b) Categoría toxicológica:	:	Altamente peligroso - Tóxico
c) Antídoto en caso de Intoxicaciones	:	Administrar Sulfato de atropina por vía endovenosa.
d) Precauciones para su uso	:	Usar máscara, guantes de jebes y ropa protectora durante su manipuleo, y al momento de la aplicación. Durante la mezcla y carga, usar un mandil protector. No comer, beber ni fumar durante su preparación y aplicación. Evite el consumo de bebidas alcohólicas antes, durante y por lo menos 3 horas después de la aplicación. Antes de quitarse los guantes, lavarlos con agua y jabón. Después de su aplicación bañarse con abundante agua y jabón. Cambiarse de ropa. No destapar con la boca las boquillas obstruidas. Los menores de edad no deben manipular o aplicar este producto, por ser más susceptibles que los adultos.

- 4. MODO DE ACCIÓN** : Tiene efecto sistémico y acción de contacto e ingestión.
- 5. MECANISMO DE ACCIÓN** : El mecanismo a través del cual producen toxicidad, se asocia con la inhibición de la acetil-colinesterasa (Ach) la enzima responsable de la destrucción y transmisión de la actividad biológica del neurotransmisor acetilcolina (AC). Con la acumulación de la AC, se altera el funcionamiento normal del impulso nervioso.
- 6. FITOTOXICIDAD** : No es fitotóxico en los cultivos y dosis recomendadas.
- 7. MODO DE APLICACIÓN** : Se aplica en pulverizaciones, previa mezcla con agua, Puede ser aplicado con equipos aéreos o terrestres, utilizando el volumen de agua adecuado para lograr una buena cobertura del follaje con el preparado.
- 8. MOMENTOS DE APLICACIÓN:** Aplique cuando se observen los primeros daños de la plaga o cuando aparezcan los primeros insectos a controlar y el control biológico no sea eficiente. Repetir si es necesario.
- 9. USOS Y DOSIS** :

CULTIVO	PLAGAS		DOSIS		P.C (días)	L.M.R (ppm)
	Nombre común	Nombre técnico	L/ha	L/Cil		
Papa	"Pulgón"	<i>Myzus persicae</i>	1.0-1.5	0.4-0.6	21	0,05
	"Mosca minadora"	<i>Liriomyza huidobrensis</i>	2.0	0.8		
	"Gorgojo de los Andes"	<i>Premnotrypes suturicallus</i>	1.5-2.0	0.6-0.8		
Tomate	"Polilla"	<i>Tuta absoluta</i>	1.5-2.0	0.6-0.8	21	0,01
Maíz	"Cogollero"	<i>Spodoptera frugiperda</i>	1.0-1.5	0.4-0.6	21	0,5
Frijol	"Barrenador de brotes"	<i>Epinotia aporema</i>	1.0-1.5	0.5-0.6	21	0,05
	"Perforador de vainas"	<i>Laspeyresia leguminis</i>				

P.C = Periodo de carencia

L.M.R = Limite máximo de residuos.

- 10. PERIODO DE REINGRESO** : Esperar un mínimo de 48 horas después de la aplicación del producto antes de ingresar al área tratada.
- 11. N° DE REGISTRO SENASA** : 334-97-AG-SENASA
- 12. FORMULADOR** : **Tecnología Química y Comercio S.A.**  
Av. Separadora Industrial Mz. E, Lote 12  
Urb. Santa Raquel 2ª. Etapa – Ate  
Lima - Perú  
Teléfono: 612-6565



**MATADOR<sup>®</sup>**  
**600 SL**

**13. DISTRIBUIDOR**

**:** **AgroKlinge S.A.**  
Av. Separadora Industrial Mz. E, Lote 12  
Urb. Santa Raquel 2<sup>a</sup>. Etapa – Ate  
Lima – Perú  
Teléfono: 612-6565  
[contacto@agroklinge.com.pe](mailto:contacto@agroklinge.com.pe)



**ANEXO 6: Ficha técnica del compuesto formulado CIPERMEX® SUPER 10 CE**

# CIPERMEX® SUPER 10 CE **FARMEX** Por una tierra sana y productiva

*Concentrado emulsionable - EC*

*Insecticida agrícola*

(Alfacipermetrina)

**Reg. 428-97-AG-SENASA**

**GRUPO QUÍMICO:** Piretroide.

## COMPOSICIÓN

Alfacipermetrina	100 g/L
Aditivos	c.s.p. 1.0 L

## PROPIEDADES

- CIPERMEX® SUPER 10 CE es un insecticida perteneciente a la segunda generación de los piretroides fotoestables y termoestables, debido a que se trata de un isómero más puro y de mayor actividad, pureza que garantiza su uso en diversas condiciones.

- La alfacipermetrina contiene 100% del isómero que es de la forma CIS, posición que le confiere las propiedades tóxicas, que son tres a cuatro veces mayores que las cipermetrinas, cuyo producto técnico es una mezcla de isómeros con 40% de la forma CIS y 60% de la forma TRANS. Por lo tanto, se requiere menos dosis para lograr un control eficiente.

## MODO DE ACCIÓN

- CIPERMEX® SUPER 10 CE es un insecticida que actúa por contacto e ingestión, por lo que se recomienda contra insectos masticadores, chupadores y picadores chupadores.

- CIPERMEX® SUPER 10 CE, por su alta actividad, controla a dosis bajas estados larvales, ninfales y adulto. Ha demostrado también un efecto ovicida importante. CIPERMEX® SUPER 10 CE, controla eficientemente varias especies plaga en cultivos industriales, alimenticios y hortícolas, debido a su amplio rango de actividad, excelente acción inmediata y adecuada persistencia.

**COMPATIBILIDAD:** CIPERMEX® SUPER 10 CE es compatible con la mayoría de insecticidas, fungicidas y otros agroquímicos, pero no lo es con sustancias alcalinas como: cal, azufre y compuestos a base de cobre. Las aguas con pH alcalino también aceleran su degradación por lo que debe evitarse este tipo de aguas en las aplicaciones.

## FORMA DE APLICACIÓN

- Para aplicaciones aéreas, considerar siempre la dosis recomendada por hectárea.

- Para aplicaciones con equipo terrestre tomar como referencia, la dosis por ha y calcular el volumen de aplicación para determinar la cantidad de producto que debe ponerse por cilindro o tanque de la pulverizadora.

- Los valores de concentración que se dan en el cuadro de dosificaciones, son referenciales para aplicaciones terrestres con equipos de mochila manuales.

#### USOS REGISTRADOS

CULTIVO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE TÉCNICO	DOSIS	P.C. (días)	L.M.R. (ppm)
Algodonero	Gusano rosado	<i>Pectinophora gossypiella</i>	250-300 mL/ha	14	0.1
	Arrebiatado	<i>Dysdercus peruvianus</i>	200-300 mL/ha	14	0.1
Alfalfa	Caballada	<i>Spodoptera sp.</i>	250-300 mL/ha	14	0.5
Papa	Mosca minadora	<i>Liriomyza huidobrensis</i>	400-500 mL/ha	14	0.05
Camote	Gusano comedor de la hoja	<i>Spodoptera eridania</i>	300-400 mL/cil	7	0.05
Tomate	Polilla	<i>Tuta absoluta</i>	400-600 mL/ha	14	0.5
Alcachofa	Gusano perforador de capullos	<i>Heliothis virescens</i>	200-250 mL/cil	2	2
<i>Capsicum annum</i>	Perforador franjeado	<i>Symmetrischema capsicum</i>	300 mL/cil	2	0.5
Cebolla	Trips	<i>Thrips tabaci</i>	300 mL/cil	7	0.1
Espárrago	Gusano defoliador	<i>Heliothis virescens</i>	250 mL/cil	7	0.1
P.C.: Período de carencia en días.					
L.M.R.: Límite máximo de residuos en partes por millón.					

**TOXICOLOGÍA:** CIPERMEX® SUPER 10 CE es un insecticida de moderada toxicidad oral y baja toxicidad dermal para animales de sangre caliente. Produce ligera irritación a la piel y es moderadamente irritante a los ojos.

DL50 oral aguda (i.a.)	79-400 mg/kg
DL50 dermal aguda (10 CE)	853 mg/kg

DL50 dermal aguda (i.a.)

500 mg/kg

### **EFFECTOS SOBRE EL MEDIO AMBIENTE**

- Bajo condiciones de laboratorio, la alfacipermetrina es altamente tóxica para los peces, por lo que se recomienda no contaminar las aguas. De modo similar a otros piretroides, el CIPERMEX® SUPER 10 CE no es tóxico a las aves bajo condiciones de campo, ni afecta las poblaciones de aves, cuando se emplea a las dosis recomendadas.

- Bajo condiciones normales, las aplicaciones de CIPERMEX® SUPER 10 CE no afectan a las abejas, aunque en condiciones de laboratorio la alfacipermetrina es altamente tóxica a estos polinizadores. Como se trata de un insecticida de acción superficial, moderadamente persistente y resistente al lavado, hay que tener especial cuidado en su uso, cuando la actividad de predadores juega un rol fundamental en la dinámica poblacional de plagas potenciales.

### **PRECAUCIONES**

- Emplear máscara, botas, guantes y overol de jebe durante la aplicación, para evitar contacto con la piel y los ojos.

- En el caso de contacto con la piel, lavar con abundante agua y jabón.

- Cambiarse diariamente la ropa después de cada aplicación.

- No comer, no beber, ni fumar durante la aplicación.

- Evitar inhalar la neblina de aspersión debido a que puede causar daño a los pulmones por la presencia de solventes orgánicos.

- Almacenar el producto bajo llave, fuera del alcance de los niños y en un lugar fresco y seco.

- No contaminar acequias, riachuelos, etc., porque es tóxico para la fauna acuática.

- Proceder al triple lavado de los envases vacíos.

### **CATEGORÍA**

Moderadamente tóxico.

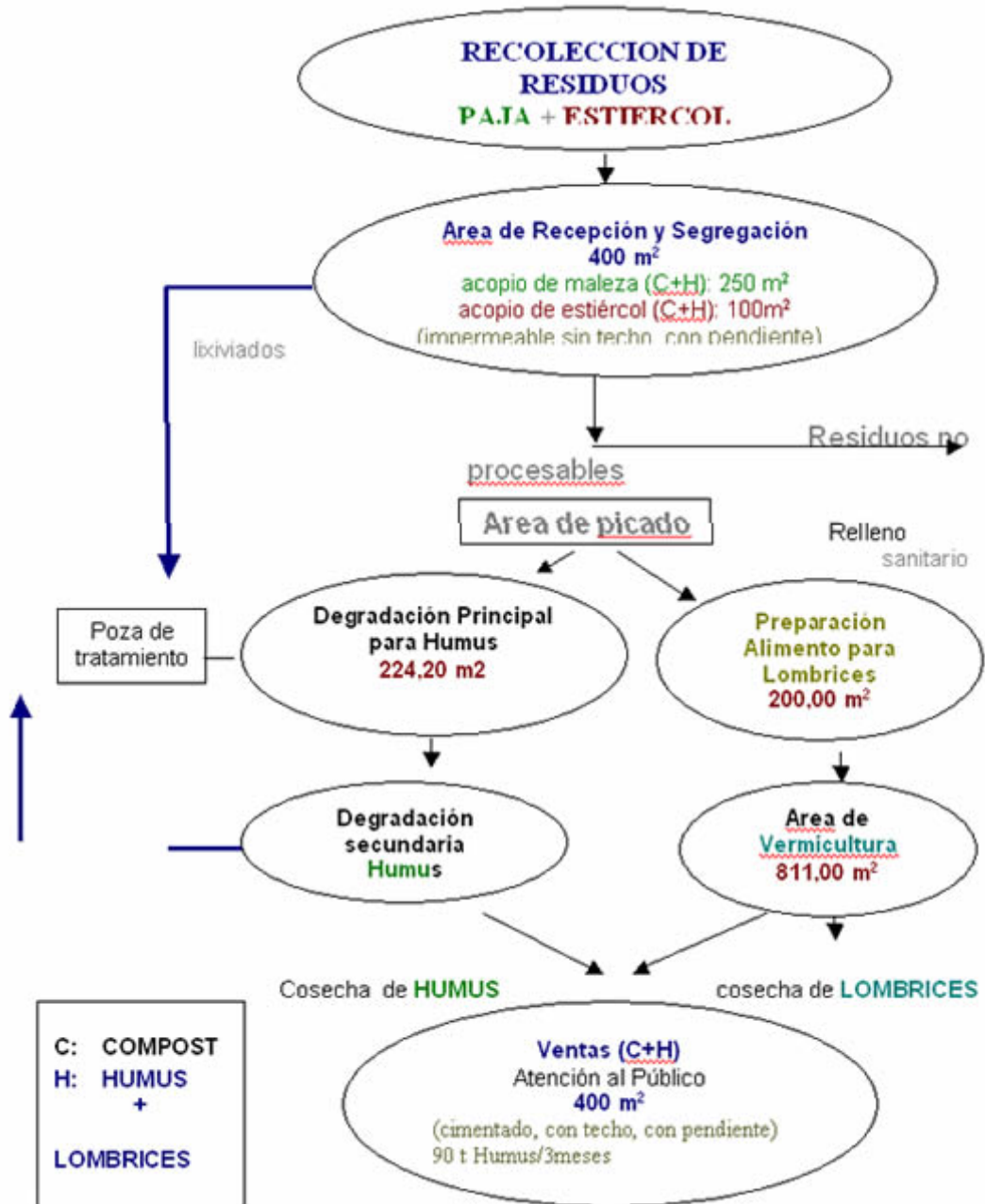
### **TOXICOLÓGICA:**

Formulado y distribuido por:

FARMEX S.A.



ANEXO 7: Esquema de flujo de material de la planta de lombricultura



**ANEXO 8: Cálculo de cantidades para la preparación de cada unidad experimental**

**Tabla 48: Datos iniciales para preparación de cada Unidad Experimental de Cloruro de potasio (KCL)**

Parámetros	Unidad	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	Total	Tola+ Réplicas
Peso del Suelo Artificial (SA)	g	150	150	150	150	150		
Concentración de KCl en la UE	mg·g <sup>-1</sup> SA	2	4	6	8	10	--	--
WHC	%	59	59	59	59	59		
% de WHC deseado en la UE	%	60	60	60	60	60		
Concentración de la solución de KCl a utilizar	g·L <sup>-1</sup>	100	100	100	100	100		
Densidad de KCl	g·mL <sup>-1</sup>	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883	1,0883		
Volumen de agua a adicionar a cada UE	mL	49,84	46,57	43,31	40,04	36,78	216,53	866,11
Volumen de KCl	mL	3,00	6,00	9,00	12,00	15,00	45,00	180,00

FUENTE: Elaboración propia

WHC= capacidad de retención de agua, UE= unidad experimental

**Tabla 49: Datos iniciales para preparación de cada Unidad Experimental de Metamidofos**

Parámetros	Unidad	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	Total	Total+ Réplicas
		Cantidades						
Peso del Suelo Artificial (SA)	g	200	200	200	200	200		
Concentración de metamidofos en la UE	mg·g <sup>-1</sup> SA	0,001	0,005	0,015	0,035	0,065	--	--
WHC	%	59	59	59	59	59		
Humedad deseada en el suelo artificial (35-45 %)	%	60	60	60	60	60		
Concentración de la solución de metamidofos a utilizar	g·L <sup>-1</sup>	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6		
Densidad de metamidofos	g·mL <sup>-1</sup>	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20		
Volumen de agua a adicionar a cada UE	mL	70,40	68,80	64,80	56,80	44,80	305,60	1 222,40
Volumen de metamidofos	mL	0,33	1,67	5,00	11,67	21,67	40,33	161,33

FUENTE: Elaboración propia

WHC= capacidad de retención de agua, UE= unidad experimental

**Tabla 50: Datos iniciales para preparación de cada Unidad Experimental de Alfa-cipermetrina**

Parámetros	Unidad	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	Total	Total+ Réplicas
Peso del Suelo Artificial (SA)	g	200	200	200	200	200		
Concentración de alfa-cipermetrina en la UE	mg·g <sup>-1</sup> SA	0,003	0,1	0,3	1	2		
WHC	%	50	50	50	50	50		
Humedad deseada en el suelo artificial (35-45 %)	%	60	60	60	60	60		
Concentración de la solución alfa-cipermetrina a utilizar	g·L <sup>-1</sup>	10	10	10	10	10		
Densidad de alfa-cipermetrina	g·mL <sup>-1</sup>	1,28	1,28	1,28	1,28	1,28		
Vol de agua a adicionar a cada UE	mL	59,923	57,440	52,320	34,400	8,800	212,88	851,53
Volumen de alfa-cipermetrina	mL	0,06	2,00	6,00	20,00	40,00	68,06	272,24

FUENTE: Elaboración propia

WHC= capacidad de retención de agua, UE= unidad experimenta