

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE AGRONOMÍA**  
**CARRERA INGENIERIA AGRONÓMICA**



**TESIS DE GRADO**

**BIOENSAYOS DE ECOTOXICOLOGÍA CON *Daphnia magna* PARA  
DETERMINAR EL RIESGO AMBIENTAL ACUÁTICO CON  
PLAGUICIDAS USADOS EN MECAPACA Y DESTINADOS PARA  
EL RIEGO**

**NHAÍR PENÉLOPE VALLE PÉREZ**

**LA PAZ – BOLIVIA**

**2021**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE AGRONOMÍA  
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**“BIOENSAYOS DE ECOTOXICOLOGIA CON *Daphnia magna* PARA  
DETERMINAR EL RIESGO AMBIENTAL ACUATICO CON PLAGUICIDAS  
USADOS EN MECAPACA Y DESTINADOS PARA EL RIEGO”**

Tesis de Grado presentado como requisito  
para optar el Título de  
Ingeniera Agrónoma

**NHAÍR PENÉLOPE VALLE PÉREZ**

**ASESORES**

Ing. Ph. D. René Chipana Rivera .....

Ing. M. Sc. Teresa Ruíz Díaz Luna Pizarro .....

Lic. Roberto Apaza Chávez .....

**TRIBUNAL**

Ing. M. Sc. Juan José Vicente Rojas .....

Ing. M. Sc. Luis Humberto Ortuño Rojas .....

Ing. M. Sc. Fanny Bertha Arragan Tancara .....

**Aprobada**

Presidente Tribunal Examinador: .....

**LA PAZ – BOLIVIA**

**2021**

## **DEDICATORIA**

*A mis padres con mucho amor, José Valle Aliaga y Gladys Pérez Villafuerte por creer en mí y brindarme todo su amor, apoyándome en cada paso que doy, dándome la fuerza para continuar, por enseñarme y guiarme a lo largo del camino, por ser mis motivadores y los formadores de lo que ahora soy como persona.*

*A mi hermano, mi compañero de vida, por ser la persona que me brinda su amor de muchas maneras, también dedicarle a mi confidente, por ser incondicional en mi vida, por darme su apoyo y consejos, luchando junto a mí en los momentos más difíciles, por último, a mis angelitos, que sin ellos no hubiera sido posible esto, siempre están conmigo y los llevo en el corazón (M.B.B.).*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Quiero agradecer a Dios, por guiarme en el camino y fortalecerme en cada obstáculo.*

*A mi querida facultad por brindarme conocimiento y felicidad en los años de estudio, a la unidad de Limnología del instituto de Ecología de la UMSA y al Instituto de Calidad Ambiental por brindarme sus instalaciones para el desarrollo de la etapa investigativa, además del personal.*

*Los agradecimientos más sinceros, a mis asesores y revisores quienes con su conocimiento y su guía fue pieza clave para desarrollar cada etapa de la investigación.*

*Agradecer a las personas que aportaron con sus consejos y experiencia en la parte experimental y de laboratorio, al Lic, Jorge Molina y al Ing. Jaime Chincheros por su colaboración.*

*Agradecer también a las personas que me guiaron y aportaron para realizar el documento final Ing. Juan José Vicente, al Ing. Eduardo Palma, Ing. Isidro Callisaya, Dr. Jackov Arteaga por tomarse el tiempo de revisar y corregir mi documento, además del apoyo constante durante todo el proceso al Dr. Rene Chipana, por último, agradecer a mi familia por las palabras de aliento y amigos que aportaron a mi investigación.*

## Contenido

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo General .....	2
2.2. Objetivos Específicos .....	2
3. REVISION BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. Convenios de Bolivia .....	3
3.2. Normativa en Bolivia.....	3
3.3. Evaluación de riesgo ambiental .....	5
3.4. Toxicidad .....	6
3.5. Toxicología.....	7
3.6. Ecotoxicología .....	7
3.7. Concentración Letal Media (CL50) .....	8
3.8. Toxicidad aguda .....	9
3.9. Plaguicidas.....	9
3.10. Plaguicidas en Bolivia .....	10
3.11. Contaminación de plaguicidas.....	10
3.12. Contaminación de aguas agrícolas .....	11
3.13. Clasificación de los plaguicidas.....	12
3.13.1. Organofosforados .....	13
3.13.2. Metamidofos.....	14
3.13.3. Características químicas.....	14
3.13.4. Propiedades .....	14
3.13.5. Presentaciones.....	15
3.13.6. Usos .....	15
3.14. Efectos en la salud .....	15

3.14.1. Mecanismo de acción sobre el organismo .....	15
3.15. Bioensayo .....	16
3.16. Pulga acuática ( <i>Daphnia magna</i> ) .....	17
3.16.1. Morfología y anatomía .....	18
3.16.2. Visión .....	18
3.16.3. Reproducción sexual .....	21
3.16.4. Reproducción partenogenética .....	21
3.16.5. <i>Daphnia magna</i> en laboratorio .....	23
3.17. Importancia de Daphnias en ecotoxicología .....	23
3.17.1. Usos .....	24
3.18. Evaluación de riesgo ambiental acuático .....	24
3.18.1. Determinación del efecto .....	25
3.18.1. Evaluación de la exposición .....	25
3.19. Caracterización del riesgo .....	26
3.19.1. Evaluación por niveles .....	26
3.19.2. Nivel I .....	26
3.19.3. Nivel II .....	27
3.19.4. Nivel III .....	28
3.19.5. Nivel IV .....	28
3.20. Probit .....	28
4. MATERIALES Y METODOS .....	29
4.1. Localización .....	29
4.2. Materiales .....	30
4.2.1. Material de laboratorio .....	30
4.2.2. Materiales de campo .....	30
4.2.3. Insumos .....	30
4.2.4. Materiales de gabinete .....	30

4.3. Metodología .....	31
4.3.1. Primera etapa.....	31
4.3.2. Segunda etapa .....	36
4.3.3. Tercera etapa.....	38
4.3.4. Cálculo de la solución madre .....	38
4.3.5. Diluciones .....	39
4.3.6. Cálculo de las concentraciones .....	40
4.3.7. Preparación de las Diluciones en laboratorio.....	42
4.3.8. Prueba de mortalidad .....	43
4.3.9. Procedimiento de bioensayos .....	43
4.3.10. Análisis estadísticos .....	44
4.3.11. Diseño experimental .....	45
4.4. Evaluación de riesgo ambiental acuático (ERA) .....	46
5. RESULTADOS y DISCUSIÓN .....	47
5.1. Primera etapa.....	47
5.2. Segunda etapa .....	48
5.2.1. La práctica del riego y su rol en la contaminación .....	50
5.3. Tercera etapa.....	53
5.3.1. Datos obtenidos en Probit .....	56
5.3.2. Evaluación de riesgo ambiental acuático.....	65
5.3.3. Análisis de varianza .....	66
6. CONCLUSIONES .....	68
7. RECOMENDACIONES .....	69
7.1. Recomendaciones para los productores:.....	71
7.2. Recomendaciones para las instituciones: .....	71
8. BIBLIOGRAFÍA .....	72
9. ANEXOS.....	77

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Normativa en Bolivia de plaguicidas químicos de uso agrícola .....	4
Tabla 2. Clasificación de los tipos de plaguicidas .....	12
Tabla 3. Clasificación grupal de plaguicidas .....	13
Tabla 4. Categorías toxicológicas para invertebrados acuáticos .....	25
Tabla 5. Cocientes de riesgo para la evaluación ecotoxicológica acuática .....	27
Tabla 6. Diluciones seriadas en tres matraces aforados .....	39
Tabla 7. Obtención de concentraciones mediante cálculos .....	40
Tabla 8. Concentraciones finales y los volúmenes de dilución .....	42
Tabla 9. Información riego y cultivos .....	51
Tabla 10. Promedio de mortalidad en el primer bioensayo .....	53
Tabla 11. Promedio de mortalidad en el segundo bioensayo .....	54
Tabla 12. Promedio de mortalidad en el tercer bioensayo .....	55
Tabla 13. Promedio de mortalidad en el cuarto bioensayo .....	55
Tabla 14. Análisis Probit (48 hrs) en el primer bioensayo .....	56
Tabla 15. Análisis Probit (48 hrs) en el segundo bioensayo .....	58
Tabla 16. Análisis Probit (48 hrs) en el tercer bioensayo .....	60
Tabla 17. Análisis Probit (48 hrs) en el cuarto bioensayo .....	62
Tabla 18. CL <sub>50</sub> a 48 horas del tercer y cuarto bioensayo .....	64
Tabla 19. Categoría toxicológica para peces e invertebrados .....	64
Tabla 20. Valores transformados .....	66
Tabla 21. Análisis de varianza .....	67
Tabla 22. Prueba de medias de Fisher .....	67



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del Metamidofos.....	14
Figura 2. Morfología y anatomía interna de una Daphnia magna.....	20
Figura 3. Ciclo reproductivo de los dáfnidos.....	22
Figura 4. Croquis de laboratorio.....	46
Figura 5. Pulgas de agua adultas en vaso de precipitado.....	48
Figura 6. Nacientes del rio Aleluyani en la comunidad de Avircato.....	52
Figura 7. Representación gráfica del análisis Probit primer bioensayo.....	57
Figura 8. Representación gráfica del análisis Probit segundo bioensayo.....	59
Figura 9. Representación gráfica del análisis Probit tercer bioensayo.....	61
Figura 10. Representación gráfica del análisis Probit cuarto bioensayo.....	63

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Reproducción de Daphnia magna en condiciones controladas.....	77
Anexo 2. Proceso de obtención de datos del plaguicida.....	80
Anexo 3. Medición del caudal.....	81
Anexo 4. Encuesta realizada a los productores.....	82
Anexo 5. Etiqueta del producto Stermin 600 SL.....	83
Anexo 6. Hoja de seguridad del producto STERMIN 600 SL.....	84
Anexo 7. Preparación de las diluciones.....	86
Anexo 8. Realización de bioensayos.....	87
Anexo 9. Datos obtenidos de cada bioensayo.....	88

## RESUMEN

En la presente investigación se realizó bioensayos con (*Daphnia magna*) los cuales son bioindicadores ambientales de efluentes dulceacuícolas usados en ensayos ecotoxicológicos. Se aplicó el plaguicida de mayor incidencia en la comunidad de Avircato – urbanización Villa linda del municipio de Mecapaca, (STERMIN 600 SL) un organofosforado y de ingrediente activo Metamidofos, a diferentes concentraciones se tomó el dato proporcionado por la hoja de seguridad del producto, indicando  $CL_{50} = 0.026$  mg/l en *Daphnia magna*, este dato fue considerado como la concentración media, se realizaron cálculos exponenciales para las dos concentraciones altas y para las concentraciones bajas se fraccionó a partir de la concentración media, haciendo un total de cinco concentraciones para someter a los especímenes a prueba,  $C1 = 0.006$  mgL<sup>-1</sup>,  $C2 = 0.013$  mgL<sup>-1</sup>,  $C3 = 0.026$  mgL<sup>-1</sup>,  $C4 = 0.052$  mgL<sup>-1</sup> y  $C5 = 0.104$  mgL<sup>-1</sup>. Se tomaron datos de cuatro bioensayos realizados en diferentes fechas, se procesaron los datos con programa estadístico XLSTAT 2021 aplicando la función Probit para determinar la  $CL_{50}$ , los primeros bioensayos realizados fueron considerados como preliminares, del tercer y cuarto bioensayo se obtuvo valores de 0.010mgL<sup>-1</sup> y 0.012 mgL<sup>-1</sup>, donde la  $CL_{50}$  promedio del producto formulado fue de 0.011mg/l, se observó que este valor no coincide con el dato indicado en la hoja de seguridad, al realizar la evaluación de riesgo ambiental acuático, se determinó que el producto formulado es extremadamente toxico para cuerpos de agua, el Análisis de varianza realizado mostró que el producto es toxico a diferentes concentraciones en base a la mortalidad, siendo el rango de concentraciones 0.013mgL<sup>-1</sup> – 0.026mgL<sup>-1</sup>, donde muere el 50% de la población. Por otro lado, el efecto del riego en la contaminación del agua por plaguicidas se da a través del transporte de solutos del canal de riego, escorrentía superficial, infiltración y la acumulación de pesticidas en áreas de cultivos, afectando principalmente a las zonas bajas, además de los desechos del plaguicida en el rio. Por lo que se concluye que la  $CL_{50}$  del producto formulado difiere en comparación al dato citado en fuentes oficiales el cual indica estudios solo del ingrediente activo (metamidofos), como producto del trabajo de ecotoxicología, este puede ser aplicado en diferentes estudios de calidad de aguas.

## SUMMARY

In this research, bioassays were carried out with (*Daphnia magna*) which are environmental bioindicators of freshwater effluents used in ecotoxicological tests. The pesticide with the highest incidence in the community of Avircato - Villa Linda urbanization of the municipality of Mecapaca, (STERMIN 600 SL) was applied an organophosphate and active ingredient Methamidophos, at different concentrations the data provided by the product safety sheet was taken, indicating  $LC_{50} = 0.026 \text{ mg / l}$  in *Daphnia magna*, this data was considered as the average concentration, exponential calculations were made for the two high concentrations and for the low concentrations it was fractionated from the average concentration, making a total of five concentrations for subject the specimens to test,  $C_1 = 0.006 \text{ mgL}^{-1}$ ,  $C_2 = 0.013 \text{ mgL}^{-1}$ ,  $C_3 = 0.026 \text{ mgL}^{-1}$ ,  $C_4 = 0.052 \text{ mgL}^{-1}$  and  $C_5 = 0.104 \text{ mgL}^{-1}$ . Data were taken from four bioassays carried out on different dates, the data were processed with the statistical program XLSTAT 2021 applying the Probit function to determine the  $LC_{50}$ , the first bioassays carried out were considered preliminary, values of  $0.010 \text{ mgL}^{-1}$  were obtained from the third and fourth bioassays- 1 and  $0.012 \text{ mgL}^{-1}$ , where the average  $LC_{50}$  of the formulated product was  $0.011 \text{ mg / l}$ , it was observed that this value does not coincide with the data indicated in the safety data sheet, when performing the aquatic environmental risk assessment, it was determined that the formulated product is extremely toxic to bodies of water, the analysis of variance carried out showed that the product is toxic at different concentrations based on mortality, being the concentration range  $0.013 \text{ mgL}^{-1} - 0.026 \text{ mgL}^{-1}$ , where 50 die % of the population. On the other hand, the effect of irrigation on water contamination by pesticides occurs through the transport of solutes from the irrigation canal, surface runoff, infiltration and the accumulation of pesticides in crop areas, mainly affecting low-lying areas, in addition of pesticide waste in the river. Therefore, it is concluded that the  $LC_{50}$  of the formulated product differs compared to the data cited in official sources which indicates studies only of the active ingredient (methamidophos), as a product of ecotoxicology work, this can be applied in different water quality studies.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La contaminación es la alteración nociva del estado natural de un medio como consecuencia de la introducción de un agente totalmente ajeno al mismo (contaminante). Esta causa inestabilidad, desorden, daño o malestar en un ecosistema, en un medio físico o en un ser vivo. Esta es una consecuencia indeseable de los procesos productivos que afecta no sólo a la salud humana sino también a la integridad de los ecosistemas, ocasionando daños a veces irreversibles, tales como las pérdidas de biodiversidad, donde quizás el deterioro ambiental se hace más relevante es en el agua, pues es un insumo básico para la subsistencia de todo organismo vivo y para las actividades productivas del hombre (Escobar,2009).

Se reconoció que este tipo de estudios requerían de la participación de investigadores de distintas áreas del conocimiento como son la química, la ecología, la biología y la toxicología, entre otras. El término “ecotoxicología” fue establecido por como una extensión natural de la toxicología (que estudia los efectos en organismos individuales) enfocada al estudio de los efectos ecológicos de los contaminantes o bien al estudio de los efectos de los contaminantes en los ecosistemas (Ramirez & Mendoza, 2008).

Muchas veces, en el medio natural encontramos concentraciones de tóxico tan pequeñas que pueden resultar prácticamente inocuas a corto plazo, pero ser extremadamente peligrosas para la fauna y flora a largo plazo. De ahí la importancia de evaluar el impacto de concentraciones subletales de tóxico en poblaciones de organismos expuestos durante un periodo de tiempo suficientemente largo como para que se puedan contemplar los efectos en la capacidad reproductiva, tiempo de madurez reproductiva y esperanza de vida de esos organismos expuestos, parámetros de los que depende, en condiciones normales, la “salud” de una población natural (Ramirez & Mendoza, 2008).

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, la cual se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres (Larraín,1995).

Debido a este tipo de preocupaciones de la sociedad ha obligado a los gobiernos a reanalizar las normas y reglamentos que se aplican para evaluar y aceptar los nuevos plaguicidas antes de ser autorizados (MMAyA, 2020).

El presente trabajo tiene como fin demostrar la eficacia de los bioensayos, los cuales pueden ser aplicados dentro del país, usando protocolos establecidos y demostrados en varios países, trabajar con diferentes especies y proporcionar información acerca del producto formulado que aplica el productor para combatir distintos tipos de plagas. Además de verificar si el dato proporcionado en la hoja de seguridad y en fuentes oficiales es similar al producto formulado en base a la mortalidad de los organismos, tomando en cuenta que el producto no se encuentra registrado para su importación dentro el país, sin embargo, se lo puede adquirir de manera ilegal.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo General**

- Determinar el riesgo ambiental acuático del plaguicida más usado en la localidad de Mecapaca usando *Daphnia magna*

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Obtener sexta generación de pulgas acuáticas (*Daphnia magna*) en condiciones controladas.
- Determinar el plaguicida de mayor uso, aplicando encuestas en el municipio de Mecapaca, localidad Avircato.
- Analizar las muestras a diferentes concentraciones del plaguicida, en presencia de *Daphnia magna*, para determinar la CL<sub>50</sub> aplicando Probit
- Evaluar el rol de la práctica del riego en la contaminación por plaguicida

### **3. REVISION BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Convenios de Bolivia**

El Estado Plurinacional de Bolivia es parte de los siguientes convenios internacionales en materia de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola (PQUA):

En el año 1996 mediante la Ley N° 1698 se ratifica el Convenio de Basilea (Bolivia 1996). Se trata de un acuerdo global entre varios países con el fin principal el de proteger la salud humana y el medio ambiente frente a los efectos perjudiciales de los desechos peligrosos, regulando los movimientos transfronterizos de desechos peligrosos y otros desechos. El convenio obliga a sus partes a garantizar que los desechos serán manejados y eliminados de manera ambiental racional y amigable con el fin de reducir al mínimo la generación y el movimiento de estos desechos (Bascopé et al., 2019).

Bolivia mediante la Ley N° 2417 del año 2002 ratifica el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) (Bolivia 2002). De esta manera asume las decisiones, compromisos derechos y obligaciones para garantizar la eliminación de los COPs a través de programas estratégicos. En el año 2005 se promulga el Decreto Supremo N° 28092 con el objetivo de crear el Programa Nacional de Contaminantes Orgánicos Persistentes (PRONACOPs), una instancia técnica y operativa del Ministerio de Medio Ambiente y Agua (Bascopé et al., 2019).

A través de la Ley N° 2469 del año 2003 se aprueba y ratifica el convenio de Róterdam para la aplicación del procedimiento de Consentimiento Fundamentado Previo (CFP) con la finalidad de proteger la salud humana y al medio ambiente a través del control y vigilancia de la comunidad internacional sobre el comercio de algunos plaguicidas y productos químicos industriales (Bolivia 2003). En el Anexo III del Convenio existen productos químicos enumerados sujetos al CFP. También existen criterios y procesos necesarios para incluir otros productos químicos (Bascopé et al., 2019).

#### **3.2. Normativa en Bolivia**

Durante los últimos años el Estado Plurinacional de Bolivia ha realizado una serie de avances en torno a la protección del medio ambiente y a la salud humana vinculados a la temática de los plaguicidas químicos de uso agrícola (Bascopé et al., 2019).

**Tabla 1.***Normativa en Bolivia de plaguicidas químicos de uso agrícola*

<b>Normativa</b>	<b>Descripción</b>
Resolución N° 630	Establece una serie de criterios, métodos, protocolos y procedimientos de evaluación de PQUA.
Manual Técnico Andino para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola	Busca facilitar la aplicación de la Decisión 436 en los Países Miembros e identificar los procedimientos y criterios orientados al desarrollo técnico y científico del Registro de Plaguicidas.
Ley N° 830 de Sanidad e Inocuidad Alimentaria	Establece que el SENASAG es la autoridad competente en el tema de plaguicidas de uso agrícola respaldado por la Ley N° 300 Marco de la Madre Tierra
Resolución Administrativa N° 041/2018 Reglamento de Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola	Establece requisitos, lineamientos y procedimientos para el registro y control de PQUAs en el territorio nacional. Busca prevenir y minimizar riesgos a la salud y al medio ambiente.
Resolución Administrativa SENASAG N° 170/2015	El SENASAG en coordinación con los Ministerios de Medio Ambiente y Agua y Ministerio de Salud realizaron la evaluación del ingrediente activo Metamidofos, llegando a la conclusión de prohibir la importación y el uso de sus productos formulados.

**Fuente:** Plaguicidas químicos usados en el cultivo de soya en el departamento de Santa Cruz, Bolivia (2019).

Según la resolución de aprobación del Manual de Procedimientos de Evaluación Ecotoxicológica de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola (MMAyA, 2020), los artículos sobre medio ambiente en la constitución política del estado de Bolivia establecen:

Que, la Constitución Política del Estado, en su párrafo II del artículo 16 establece que "El Estado tiene la obligación de garantizar la seguridad alimentaria, a través de una alimentación sana, adecuada y suficiente para toda la población".

Que el Artículo 33 de la Constitución Política del Estado dispone que las personas tienen derecho a un medio ambiente saludable, protegido y equilibrado. El ejercicio de este derecho debe permitir a los individuos y colectividades de las presentes y futuras generaciones, además de otros seres vivos, desarrollarse de manera normal y permanente", en el marco de los Derechos de tercera generación.

Que, el Artículo 342 señala "Es deber del Estado y de la población conservar, proteger y aprovechar de manera sustentable de los recursos naturales y la biodiversidad, así como mantener el equilibrio del medio ambiente", por tanto, en cumplimiento de la Decisión 804 de la CAN, el Estado — en sus diferentes niveles — debe cumplir dichos postulados constitucionales por medio de los mecanismos, institucionales y normas en relación a los Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola — PQUAs.

Que, el numeral 9 del Artículo 13 de la Ley N° 300 — Ley Marco de la Madre Tierra y Desarrollo Integral para Vivir Bien "El establecimiento de mejores condiciones y capacidades integrales para la producción, acceso y consume de alimentos más sanos, inocuos, nutritivos, agroecológicos y culturalmente adecuados para los seres humanos, con énfasis en las áreas urbanas". La precitada norma establece en su numeral 13, artículo 24 la necesidad de: "Regular el uso de plaguidas y otros insumos agropecuarios que causan daño y la salud humana, según norma específica", teniéndola como una de las bases y orientaciones del Vivir Bien, a través del desarrollo integral en agricultura y ganadería.

Que el artículo 2 de la Decisión 804 señala los lineamientos y procedimientos armonizados para el registro y control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola (PQUA); orientar su uso y manejo correcto en el marco de las buenas prácticas agrícolas; prevenir y minimizar riesgos a la salud y el ambiente; asegurar la eficacia biológica del producto; y, facilitar su comercio en la Subregión.

### **3.3. Evaluación de riesgo ambiental**

La evaluación de la calidad del ambiente, en particular de las comunidades acuáticas, ha sido por tradición, desarrollada con base en métodos soportados por mediciones y determinaciones de las características físicas y químicas del agua. Cuando se trata de



estimar o determinar la calidad ambiental en general, son aplicados los procedimientos físico-químicos clásicos para denotar el grado de calidad o afectación del parámetro estudiado. Un ejemplo es la inclusión de la respuesta de los organismos en distintas escalas, desde biomarcadores hasta comunidades, es ahora una alternativa y un complemento en la evaluación de la calidad del ambiente. La bioevaluación o biomonitoreo puede revelar impactos o efectos futuros y presentes que están enmascarados, tales como nuevas sustancias tóxicas que han ingresado al ambiente o posibles cambios en las propiedades físicas. Otra ventaja es que pueden ser estudiados los cambios o alteraciones a largo plazo sobre el ecosistema. Por estas razones es importante incorporar, a los métodos de evaluación de la calidad ambiental y de la integridad de los ecosistemas, mecanismos como los indicadores biológicos que complementen a los métodos tradicionales (Mohammad et al., 2005).

La mayoría de los insecticidas son biodegradables y se hidrolizan en otros productos que no resultan peligrosos, sin embargo, los hidrocarburos clorados son resistentes a la degradación y se hidrolizan con mucha lentitud, razón por la cual han sido denominados plaguicidas persistentes o “duros” (Mohammad et al., 2005).

En cambio, los plaguicidas constituidos a base de carbamatos y los de base de fósforo orgánico, también llamados organofosforados, se degradan con mayor rapidez en el medio ambiente, por lo que se les llama plaguicidas suaves o “ligeros”; sin embargo, estos son más tóxicos para el ser humano (Mohammad et al., 2005).

### **3.4. Toxicidad**

La toxicidad es la capacidad de una sustancia química de causar daños a los organismos vivos. Esta depende de la cantidad de la sustancia administrada o absorbida y del tiempo expuesto a la misma. La correlación entre la exposición y la incidencia o el grado de severidad es llamada correlación-respuesta. Los plaguicidas pueden afectar directamente a los organismos vivos causando la muerte por su toxicidad aguda (efectos tóxicos observados con una exposición única de corta duración menos de 24 horas en animales de laboratorio), o afectando el crecimiento. Los plaguicidas pueden afectar indirectamente a los organismos por alteración de otros que le sirven de alimento, o por afectar la calidad del hábitat (Maldonado et al., 2007).

El efecto tóxico, es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico (Curtis et al., 2001).

### **3.5. Toxicología**

La toxicología se define como la ciencia que estudia las sustancias químicas y los fenómenos físicos en cuanto son capaces de producir alteraciones patológicas en los seres vivos, a la par que estudia los mecanismos de producción de tales alteraciones y los medios para contrarrestarlas, así como los procedimientos para detectar, identificar y determinar tales agentes y valorar su grado de toxicidad (Vettorazzi,1992).

Es entonces que surgen las subdisciplinas toxicología ambiental y ecotoxicología. Éstos son términos usados para describir el estudio científico de los efectos adversos sobre los organismos que pueden ocasionar las sustancias químicas cuando son liberadas en el ambiente (Escalante,2000).

### **3.6. Ecotoxicología**

La ecotoxicología, rama de la ciencia definida por Butler en 1978, estudia y analiza los efectos de agentes químicos y físicos sobre organismos vivos, con particular atención a poblaciones y comunidades de ecosistemas definidos. La ecotoxicología concierne a la protección de los sistemas ecológicos frente a los efectos adversos de los compuestos químicos de síntesis. Para ello, es necesario anticipar a qué zonas del medio natural acceden estas sustancias y cuáles son sus efectos ecológicos allá donde accedan (Calow, 1993).

La ecotoxicología aplicada tiene como objetivo el desarrollo de protocolos de ensayo para ser utilizados como herramientas de predicción tempranas que permitan definir umbrales permisibles, con niveles de incertidumbre aceptables, y sirvan de guía a las entidades reguladores para la toma de decisiones (Day et al., 1988).

En principio, existen dos necesidades prioritarias por las que se deben evaluar los efectos de los compuestos químicos en los ecosistemas. En primer lugar, es de vital importancia poder anticipar de qué manera los compuestos con capacidad tóxica pueden desarrollar un impacto en un ecosistema dado. Este tipo de estudios son llevados a cabo en el laboratorio. En segundo lugar, también es importante evaluar qué cambios tienen lugar en los ecosistemas bajo la influencia de sustancias tóxicas liberadas al medio natural (Sánchez, 2006).

### **3.7. Concentración Letal Media (CL50)**

Es la concentración de una sustancia que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba. Es empleada como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia (Cisneros, 2012).

La definición de toxicidad de límites cuantitativos de contenido de sustancias tóxicas como el que establecen la CL<sub>50</sub> (concentración letal media que mata al 50% de los organismos de laboratorio) (Curtis et al., 2001).

La evaluación más común de la toxicidad es la medida de la letalidad a corto plazo. Para una sustancia dada, esta medida implica la determinación de la concentración media que es letal para una proporción fija del 50% de una población de prueba de organismos después de la exposición continua durante un tiempo de 24 a 48 horas (Roldan, 2016).

El valor de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) se expresa en peso de sustancia por unidad de volumen de aire normal (miligramos por litro, mg/L); mientras que dosis letal media (DL50) es la dosis individual de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación, la cual es expresada por lo general como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal (Roldan, 2016).

La máxima información que aporta la CL<sub>50</sub> es una idea del orden de magnitud de la dosis letal en condiciones específicas, es decir que aporta una base, aunque sea aproximada,

para la evaluación inicial del peligro probable que determina una sustancia tóxica y de los efectos de varios parámetros en su toxicidad (Roldan, 2016).

### **3.8. Toxicidad aguda**

En la práctica, ciertos factores de los que se relacionan con la toxicidad “ambiental” de los compuestos químicos a nivel poblacional reciben más atención que otros. Tal es el caso de los estudios de toxicidad aguda, en los que se emplea la mortalidad como criterio para evaluar la toxicidad de estos compuestos, en detrimento de los estudios de los efectos subletales en los individuos expuestos. Por tanto, se requiere un mayor desarrollo de estudios orientados a sentar las bases para establecer los niveles de tolerancia o aceptación de impactos ecológicos desencadenados por la presencia de compuestos con capacidad tóxica en el ambiente natural. Este tipo de estudios supone la exposición crónica de un organismo o grupo de organismos a concentraciones subletales de un determinado compuesto, cuya toxicidad se desea analizar (Sánchez, 2006).

### **3.9. Plaguicidas**

Según la FAO, plaguicidas son sustancias químicas que se utilizan para eliminar las plagas. Pertenecen a este grupo los insecticidas, funguicidas, herbicidas, nematocidas, rodenticidas, acaricidas y mosquicidas, que se emplean, respectivamente, para combatir las plagas de insectos, eliminar enfermedades micóticas y malas hierbas, y matar nematodos, ratas y ratones, ácaros y garrapatas, y caracoles que transmiten enfermedades. Los plaguicidas también pueden provocar la muerte de otros organismos, y en su mayor parte son venenosos para los seres humanos.

Posteriormente cada insecticida se clasifica en una de las cuatro categorías siguientes: categoría Ia, extremadamente peligroso; Ib, muy peligroso; II, moderadamente peligroso; y III, ligeramente peligroso. Normalmente los plaguicidas deben almacenarse antes de ser utilizados. Se relatará aquí un suceso que ilustra la enorme importancia de aplicar prácticas adecuadas para el almacenamiento y control de las existencias de plaguicidas, especialmente cuando se trata de productos químicos extremadamente peligrosos (FAO).

### **3.10. Plaguicidas en Bolivia**

En Bolivia, el uso de agroquímicos comenzó desde la década de los años 1950 promovido por norteamericanos en programas de 'ayuda en seguridad alimentaria', con la donación de grandes cantidades de insumos químicos, principalmente organoclorados, sustancias que por sus perjuicios ambientales y a la salud hoy están prohibidos (PLAGBOL, 2017).

El valor de las importaciones corresponde al total ya que Bolivia no produce plaguicidas. El Instituto Nacional de Estadísticas (INE) el año 2017 las importaciones de agroquímicos alcanzaron las 50 mil toneladas por un valor de 241 millones de dólares. Se estima que, además, por contrabando ingresó más del 35 % del monto importado de manera oficial (PLAGBOL, 2017).

Agricultores y vendedores tienen un bajo nivel de escolaridad, por lo que desconocen el peligro de estas sustancias. Además, el consumidor no respeta ni acata las instrucciones y/o información suministrada en las etiquetas o folletos sobre indicaciones de uso, dosis recomendada, categoría toxicológica, precauciones y advertencias, condiciones de almacenamiento y eliminación de los envases. Además, los plaguicidas son fraccionados en los mercados locales, existe una amplia desinformación en la población sobre el uso adecuado de los PQUAs y sobre sus riesgos. Existe un mal manipuleo de los sobrantes, caducados, envases y equipo de protección (PLAGBOL, 2017).

### **3.11. Contaminación de plaguicidas**

Los plaguicidas son productos químicos o agroquímicos o mezclas de sustancias, destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el crecimiento de seres vivos considerados plagas, estos productos se encuentran al alcance de la población y son utilizados en forma amplia e intensiva por diferentes sectores (MMAyA, 2017).

Una vez que estos productos ingresan en el ambiente se dispersan y se distribuyen en el aire, suelo, biota o agua según sus afinidades químicas y físicas, por sus características toxicológicas muchas veces están asociados con problemas ambientales y de salud humana (MMAyA, 2017).

Los principales problemas ambientales de los plaguicidas se presentan durante la aplicación del producto, como resultado de la dispersión de las partículas suspendidas

en el aire estas son llevadas por el viento a otras áreas, siendo la causa principal de la contaminación del agua. Por otra parte, se tienen plaguicidas cuyo ingrediente activo es un contaminante orgánico persistente, los cuales contribuyen a la contaminación atmosférica (MMAyA, 2017).

### **3.12. Contaminación de aguas agrícolas**

La contaminación del agua por plaguicidas se produce al ser arrastrados por el agua de los campos de cultivo hasta los ríos y mares donde se introducen en las cadenas alimenticias provocando la muerte de varias formas de vida necesarias en el balance de algunos ecosistemas. Estos compuestos químicos han provocado la muerte de peces tanto en agua dulce como salada, también se acumulan en los tejidos de algunos peces los que a su vez ponen en peligro la vida de sus consumidores (FAO, 2021).

Los plaguicidas acumulados en las aguas ponen en peligro la vida de animales y vegetales acuáticos. La contaminación del agua por parte de la agricultura es un desafío complejo y su gestión eficaz requiere diversas respuestas, la forma más eficaz de mitigar la presión sobre los ecosistemas acuáticos y rurales es limitar la emisión de contaminantes en el origen, o interceptarlos antes de que lleguen a los ecosistemas vulnerables, una forma de hacerlo es desarrollar políticas e incentivos, limitar los aumentos en la demanda de alimentos con gran huella ambiental, por ejemplo, a través de impuestos y subsidios (FAO, 2021).

- El riego es el mayor productor mundial de aguas residuales por su volumen (en forma de drenaje agrícola).
- A nivel mundial, las tierras agrícolas reciben anualmente cerca de 115 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenados minerales. Alrededor del 20 por ciento de estos insumos de nitrógeno terminan acumulándose en los suelos y la biomasa, mientras que el 35 por ciento acaba en los océanos.
- El medio ambiente es rociado cada año a nivel global con 4,6 millones de toneladas de plaguicidas químicos.
- Los países en desarrollo representan el 25 % del uso mundial de plaguicidas en la agricultura, pero suman el 99 % de las muertes derivadas de su uso en el mundo.

- Se estima que un 24 % de la superficie irrigada en el mundo está afectada por la salinización.
- Actualmente, están catalogados como presentes en el medio acuático europeo más de 700 contaminantes emergentes, sus metabolitos y productos de transformación (FAO, 2021).

### 3.13. Clasificación de los plaguicidas

Actualmente, la clasificación de los plaguicidas se puede realizar en función de diferentes criterios como su campo de acción, estabilidad, grado de toxicidad, semejanzas químicas, etc. Siguiendo este criterio, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Fernández, 2012).

**Tabla 2.**

*Clasificación de los tipos de plaguicidas*

Tipo de plaguicida	Organismo objeto
Acaricidas	Ácaros
Fungicidas	Hongos
Herbicidas	Plantas
Insecticidas	Insectos
Larvicidas	Larvas de insectos
Nematicidas	Nemátodos
Raticidas	Roedores

**Fuente:** *Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (2003)*

De acuerdo a su estructura química, los plaguicidas se clasifican en carbamatos, organoclorados, organofosforados, compuestos inorgánicos, piretroides, derivados de la urea, arsenicales, bipidilios y muchos otros (OMS, 2003).

**Tabla 3.***Clasificación grupal de plaguicidas*

<b>Plaguicidas</b>	<b>Características</b>	<b>Ejemplos</b>
Organoclorados	Solubles en lípidos Se acumulan en los tejidos grasos de los animales Son transferidos a través de la cadena alimenticia Tóxicos para una gran variedad de animales Persistente a largo plazo	DDT Aldrin Lindano Clordán
Organofosforados	Solubles en agua Se infiltran hasta alcanzar las aguas subterráneas Menos persistentes que los organoclorados	Malatión Paratión Stermin
Carbamatos	Derivados de ácidos carbonáticos Matan a un espectro limitado de insectos, pero son altamente tóxicos para los vertebrados. Persistencia relativamente baja	Sevin Carbofurán
Diflubenesurón	Interfiere en la formación del exoesqueleto en las larvas de insectos que mudan	Furadán Dimelín

---

**Fuente:** Organización Mundial de la Salud (2003)

### **3.13.1. Organofosforados**

Son generalmente ésteres de ácido fosfórico sustituidos. Se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente que los organoclorados, pero más peligrosos debido a que tienen un grado alto de toxicidad (Wood, 2004).

Son biodegradables y no se acumulan en el organismo. Algunos organofosforados son: clorfenvinfos, demetión, diazinón, etil paratión, etión, fentión, fosfolán, malatión, metamidofos, metilazinfos, monocrotofos, tricorfón (Wood, 2004).



### 3.13.2. Metamidofos

El metamidofos (Nombre IUPAC: (RS)-O, S-dimethyl phosphoramidothioate), es un plaguicida organofosforado, insecticida y acaricida de peso molecular 141,13 g/mol. Sus nombres comerciales son: Monitor, Tamaron, Stermin 600, Filotox, Tam, Patrole, Metamidofos Estrella, Metamidofos60 WSC, methedrin 60 Morithion, Red Star Alloran, usándose 1L/Ha (Wood, 2004).

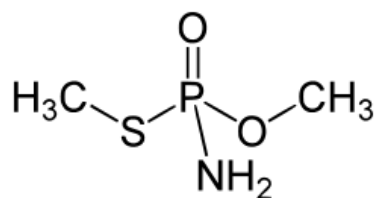
Methamidophos es un insecticida-acaricida. Aplicado al suelo es absorbido por las raíces donde ejerce su acción insecticida y acaricida (Henao et al., 1991).

### 3.13.3. Características químicas

Cristalino, punto de fusión de 46.1 °C, fácilmente soluble en agua o etanol; menos de 1 % en keroseno, menos de 10 % en benceno o xileno a temperatura ambiente. Soluble en alcoholes, hidrocarburos alifáticos clorinados; ligeramente soluble en éter. Toxicidad: Dosis letal media (DL50) oral aguda es de 19-21 mg/Kg de peso en rata; aplicaciones: Para el control de ciertas larvas de lepidópteros, áfidos, gorgojos y mosquita blanca (Wood, 2004).

#### Figura 1.

*Estructura química del Metamidofos*



**Fuente:** *Compendio de los nombres comunes de los pesticidas (2004)*

### 3.13.4. Propiedades

El Metamidofos es degradado al aire libre en sistemas naturales de agua, tiene una vida media de 15.9 días en el agua y 7.7 días en el sedimento. Sin embargo, el Metamidofos en el suelo es poco persistente y es altamente móvil. En el agua y en el sedimento es más persistente:

- A pH 5 tiene una vida media de 309 días.
- A pH 7 tiene una vida media de 27 días.

- A pH 3 tiene una vida media de 3 días.
- Es muy poco soluble en agua, aplicaciones cercanas a las aguas superficiales pueden causar contaminación.

El Metamidofos es absorbido por el suelo en pequeñas cantidades dado la rapidez de la degradación de la sustancia y la alta movilidad, ésta se lixivia en las capas del suelo (Villanueva, 1994).

La vida media en el suelo es de pocos días y los productos de degradación son: el CO<sub>2</sub>, mercaptán, sulfuro de dimétilo y disulfuro de dimetilo (Villanueva, 1994).

### **3.13.5. Presentaciones**

Se comercializa en distintas formulaciones con los nombres de Stermin 600 SL, Tamaron 600 SL, Thodoron, Tafos 600, Monitor 600, Metharon 600, etc. Se aplica al suelo incorporado al agua de riego (Villanueva, 1994).

### **3.13.6. Usos**

Existen más de 50 compuestos de plaguicidas pertenecientes a la familia de los Methamidophos. Su modo de acción es sistémico, contacto y estomacal. Absorbido por las raíces y el follaje; transportado hacia las orillas de las hojas. Inhibidor de la colinesterasa, se usa para el control de insectos masticadores, chupadores y ácaros de una gran variedad de cultivos, especialmente *Zea mays* “maíz”, *Triticumsativum* “trigo”, *Oryza sativa* “arroz”, *Glycinemax* “soya”, *Solanum tuberosum* “papa” y entre otros (Fernández, 2012).

## **3.14. Efectos en la salud**

Los insecticidas organofosforados pueden ingresar al organismo por inhalación, absorción gastrointestinal y aún por penetración a través de la piel y de las mucosas expuestas. La absorción por la piel es un poco mayor a temperaturas más altas y mucho en presencia de dermatitis (Henaó et al., 1991).

### **3.14.1. Mecanismo de acción sobre el organismo**

El sistema nervioso está compuesto por células especializadas denominados neuronas, formadas por un cuerpo celular o soma que contiene al núcleo, y por proyecciones citoplasmáticas que pueden ser de dos tipos: las dendritas o parte receptora y los axones

o parte transmisora. Estas últimas se extienden hasta hacer contacto con otras neuronas. Los axones frecuentemente se encuentran ramificados y en su parte terminal presentan una especie de arborización. La transmisión de los impulsos nerviosos tiene lugar en la sinapsis la cual se encuentra formada por una neurona presináptica, una hendidura sináptica y una neurona postsináptica (Henaó et al., 1991).

Las sinapsis colinérgicas se localizan en las fibras nerviosas autónomas preganglionares, en todas las fibras parasimpáticas posganglionares, en las terminaciones nerviosas a la médula adrenal (que embriológicamente hablando es un ganglio) y en terminaciones nerviosas a ciertas glándulas sudoríparas y vasos sanguíneos. Las sinapsis neuromusculares también son colinérgicas (Henaó et al., 1991).

### **3.15. Bioensayo**

El uso de los bioensayos de toxicidad con agentes contaminantes en organismos vivos bajo condiciones de laboratorio, se ha incrementado debido a la rapidez con que se obtiene la información sobre las dosis letales y subletales ( $CL_{50}$ ) que afectan negativamente organismos vivos en los ambientes marinos, estuarinos y dulceacuícolas (Escobar, 2009).

La ventaja de estos métodos es que nos informan si en el agua hay alguna sustancia que resulte tóxica, o sea, algún agente que pueda producir un efecto adverso en el sistema biológico, dañar su estructura o función, o producir la muerte. En la práctica estos métodos no pueden reemplazarse por los análisis químicos. Los contaminantes según su efecto se pueden dividir en dos grupos principales:

Los directos. – que tienen efectos bien definidos y nocivos en las poblaciones de organismos acuáticos. Este grupo abarca los contaminantes térmicos y químicos tóxicos que pueden degradarse fácilmente, como el fenol, o las sustancias tóxicas persistentes y posiblemente bioacumulativas, tales como plaguicidas clorados orgánicos.

Los indirectos. – son capaces de modificar el medio ambiente acuático de un modo que afecta perjudicialmente a la fauna y la flora. Este grupo incluye las sustancias sólidas, orgánicas o inorgánicas, no tóxicas que pueden quedar en suspensión y que por ello

estorban la penetración de la luz y en consecuencia la acción fotosintética de las algas, o bien pueden sedimentarse, con lo cual afectan a los seres bentónicos, y las aguas residuales con elevada demanda bioquímica de oxígeno, que son la causa de que en el medio haya bajas concentraciones de oxígeno disuelto. El uso de bioensayos para la evaluación de toxicidad de sustancias liberadas al medio a través de efluentes, ha llevado a la utilización de biomarcadores propios de los ambientes evaluados, lo cual favorece indirectamente la preservación de la biodiversidad local. Sin embargo, la variabilidad en la aplicación de las técnicas experimentales para el mantenimiento de organismos silvestres afecta la interpretación y comparación de los resultados entre laboratorios, por lo que se hace necesario desarrollar metodologías estandarizadas para establecer condiciones controladas (Escobar, 2009).

Para la realización de bioensayos es conveniente el uso de zooplancton por su pequeña talla, requiere equivalentemente poco espacio de laboratorio, poco volumen de agua, poca cantidad de tóxico, ciclo de vida corto, requerimientos nutricionales generalmente conocidos, lo cual lo hace ideal para estudios de bioacumulación. Por estas razones, entre otras, los cladóceros, están dentro de los organismos más utilizados para bioensayos (Martínez, 2010).

### **3.16. Pulga acuática (*Daphnia magna*)**

Dentro del grupo de los cladóceros, las especies del género *Daphnia* son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura una uniformidad de respuesta), y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de toxicidad, a nivel universal (Dodson & Hanazato, 1995).

Los dáfidos son crustáceos de pequeño tamaño, variando su longitud corporal entre 0.2 y 18 mm. El tamaño de *Daphnia* está estrechamente relacionado con la disponibilidad de alimento en el medio; en ambientes pobres en nutrientes, donde son escasos los cambios referentes a supervivencia y crecimiento, las hembras tienden a producir descendientes

relativamente grandes que corresponden a capas con un pequeño número de individuos, al contrario de lo que sucede en ambientes enriquecidos (Mc Kee & Ebert, 1996).

### **3.16.1. Morfología y anatomía**

Poseen el cuerpo segmentado en tres regiones (céfalon, pereion y pleon), siendo esta segmentación poco evidente. La tagma cefálica está integrada por seis metámeros que tienden a fusionarse formando un caparazón bivalvo comprimido lateralmente que cubre el resto del cuerpo. Posteriormente se prolonga en una espina caudal. El caparazón no cubre el céfalon, siendo sustituido a este nivel por un escudo cefálico. Son evidentes dos pares de apéndices anteniformes: las anténulas, más reducidas en los adultos y con función sensorial en los juveniles, y las antenas con función trófica y locomotora en los juveniles y únicamente locomotora en los adultos, que proporcionan un desplazamiento por natación “a saltos espasmódicos”, de ahí que los dáfnidos sean conocidos bajo el nombre de “pulgas de agua”. La aclimatación a distinta temperatura origina una variación en la frecuencia del batido antenal hasta que el animal se adapta a las nuevas condiciones térmicas (Lochhead, 1961).

### **3.16.2. Visión**

La visión de los individuos de este género, reside en un único ojo compuesto de color oscuro localizado en la región antero-medial del céfalon, siendo el resultado de la fusión de dos ojos de color rosado al principio del segundo estadio del desarrollo embrionario (Sobral *et al.*, 2001).

Algunas especies, poseen un ojo simple (ocelo), localizado entre la región bucal y el ojo compuesto. *Daphnia* presenta fototactismo positivo, detectando los cambios en la luminosidad del entorno a través del ojo compuesto. El ojo compuesto, en la mayoría de los cladóceros, funciona orientando al animal mientras nada (Ruppert y Barnes, 1996).

Se conoce poco acerca de los mecanismos de regulación del equilibrio hídrico, pero se sabe que *Daphnia* depende más de la absorción activa para mantener su equilibrio osmótico, que de su dieta. *Daphnia* pone en práctica tres estrategias para regular la

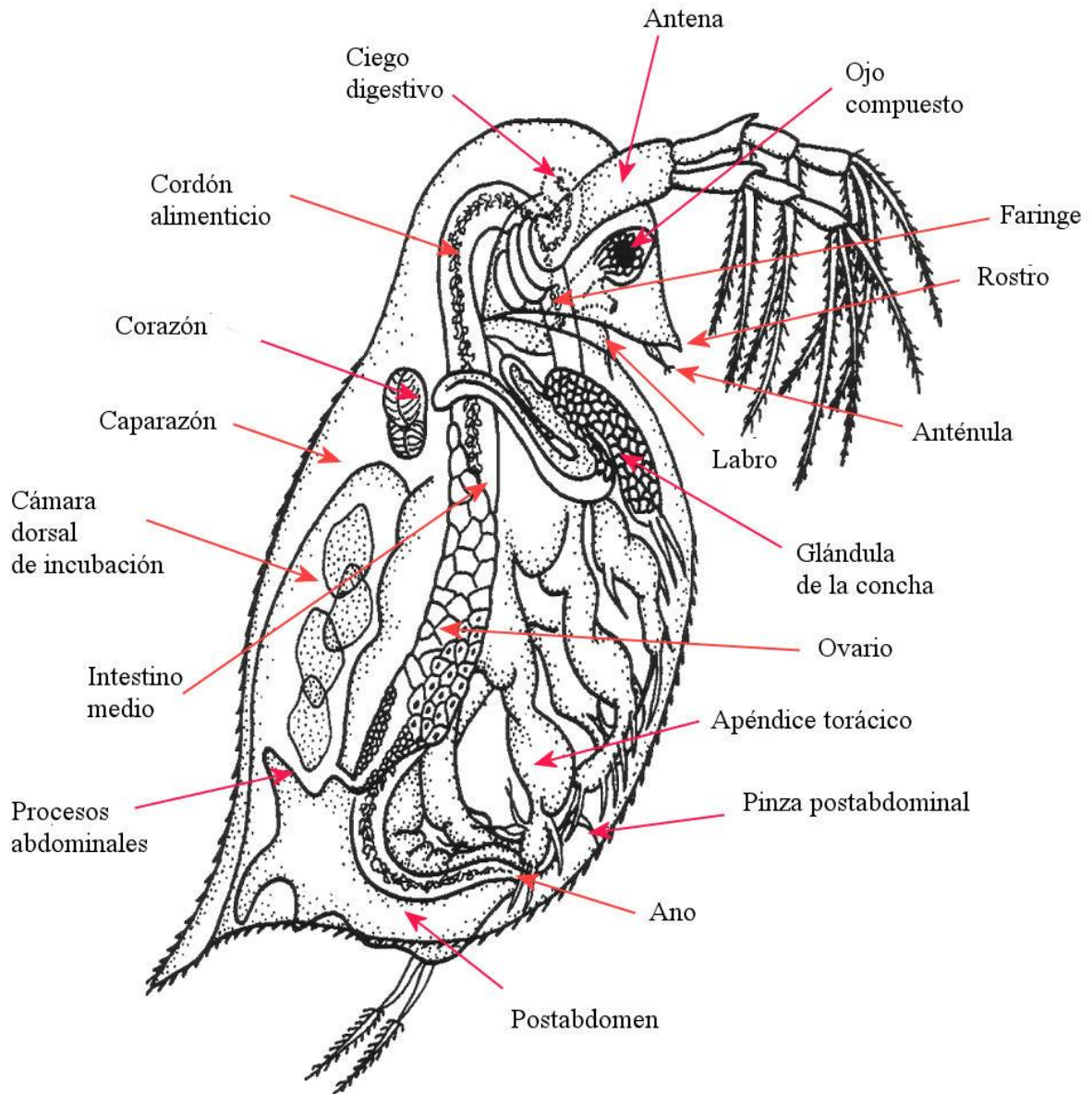
concentración iónica interna. En primer lugar, la tasa de flujo osmótico es minimizada mediante una hemolinfa diluida (Waterman, 1961).

En segundo lugar, a través de la fina cutícula de los sacos branquiales, a nivel de la base de los apéndices torácicos, se procede a la absorción activa de cloruro (Peters, 1987), incorporando así las sales perdidas al organismo. Finalmente, los productos nitrogenados son excretados como amoniaco a través de las glándulas antenales y, en algunos casos, a través de la superficie corporal general (Peters, 1987).

Los dáfnidos son de color transparente en el medio natural, pero en ambientes con escasez de oxígeno, adoptan un ligero tono rosado por la síntesis de hemoglobina para aumentar la eficacia en la captación del escaso oxígeno ambiental. Si el hábitat que ocupan se reoxigena, eliminan hierro. Parece ser que el ciego intestinal, los cuerpos grasos y las glándulas maxilares están implicados en la descomposición de la hemoglobina y la excreción de sus productos, aunque no se conoce bien cómo se consigue este resultado. El hecho de que sinteticen hemoglobina como respuesta a situaciones de escasez de oxígeno es señal de que la utilizan para la respiración (Gardiner, 1978).

**Figura 2.**

*Morfología y anatomía interna de una Daphnia magna*



**Fuente:** *Zoología de los invertebrados (1996)*

### **3.16.3. Reproducción sexual**

En el medio natural, durante la mayor parte del año, las poblaciones están integradas casi exclusivamente por hembras, siendo abundantes los machos únicamente en primavera u otoño. La aparición de machos en una población se asocia a la existencia de determinadas condiciones ambientales adversas tales como elevada densidad poblacional con el consiguiente acúmulo de productos de excreción que terminan resultando tóxicos para la población, deficiencia de recursos alimenticios en el medio, bajo contenido en oxígeno o temperaturas extremas. Estas condiciones inducen la aparición de huevos de resistencia, fruto de la reproducción sexual, envueltos por un ensanchamiento del caparazón denominado efipia y que requieren una menor inversión metabólica en la reproducción por parte de los parentales. Los huevos fecundados son grandes y sólo se producen dos en cada puesta, uno de cada ovario. Los huevos, tras un periodo de diapausa, eclosionan rápidamente cuando las condiciones ambientales favorables se restablecen. Los huevos de resistencia eclosionan liberando hembras que restituyen la reproducción partenogenética en la población (Thorp & Corvich, 1991).

Entre el dorso del cuerpo y el caparazón, las hembras presentan la denominada cámara dorsal de incubación a la que se abren los orificios genitales. Cuando la reproducción es sexual, el macho introduce su postabdomen entre las valvas del caparazón de la hembra, y deposita el esperma en el interior de la cámara incubadora. Los órganos excretores son glándulas antenales (Ruppert & Barnes, 1996).

### **3.16.4. Reproducción partenogenética**

Cuando los recursos alimenticios son abundantes en el medio y la densidad poblacional es baja, las hembras producen huevos diploides que se desarrollan en la cámara dorsal de incubación. Una hembra adulta de *D. magna* alberga embriones en tres estadios diferentes de su desarrollo, a saber, producción de oocitos, vitelogénesis en algunos de estos oocitos (ambos estadios tienen lugar en el interior de los ovarios) y desarrollo de huevos (estadio que ocurre dentro de la cámara dorsal de incubación) (Zaffagnini, 1987).

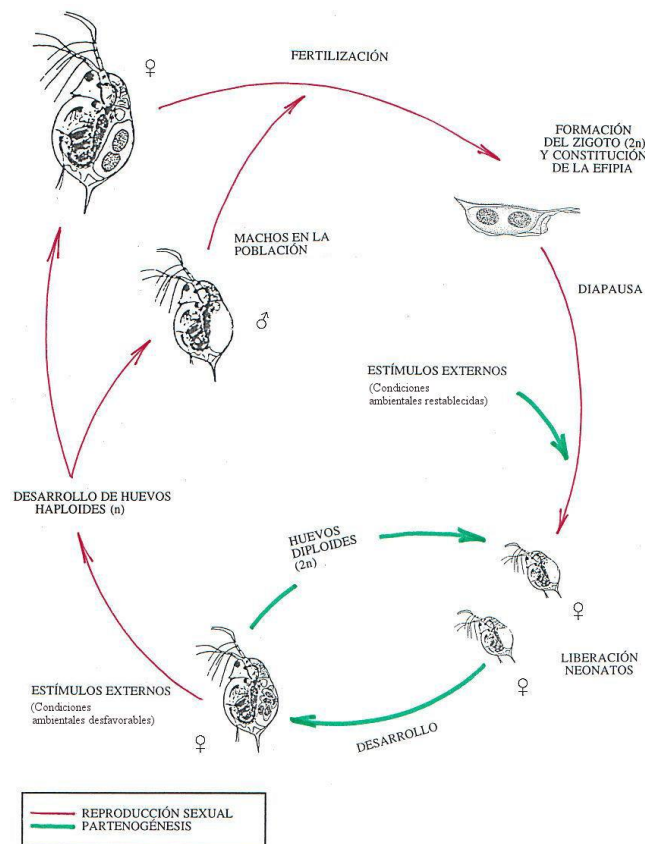
Se considera que el desarrollo embrionario ha concluido cuando tiene lugar la separación de la espina caudal y la liberación de la fina cutícula que envuelve el aparato digestivo,



momento en que los juveniles son capaces de nadar desplazándose por la columna de agua y de alimentarse (Sobral *et al.*, 2001). Los neonatos abandonan la cámara dorsal de incubación con el desprendimiento del exoesqueleto del parental durante la muda, liberándose individuos (todas hembras), de morfología similar a la del adulto. Los neonatos continúan su desarrollo con dos o tres estadios de intermuda, tras los cuales se suceden aproximadamente cinco estadios pre-reproductivos más antes de que se libere la primera camada una vez alcanzada la madurez sexual, generalmente entre el sexto y noveno día de vida (Sánchez, 2006).

**FIGURA 3.**

*En el ciclo reproductivo de los dáfnidos, se distinguen dos tipos de reproducción, con alternancia de generaciones*



**Fuente:** Alteraciones fisiológicas como consecuencia de la exposición a plaguicidas en sucesivas generaciones de *Daphnia Magna* (2006)

La fecundación subsiguiente da origen a huevos resistentes, que quedarán incluidos en un repliegue del caparazón de la hembra portadora que recibe el nombre de efipio. Estos auténticos embriones invernantes se desarrollarán al recibir una temperatura e iluminación correspondientes a la primavera o estación favorable, para originar otra serie de generaciones exclusivamente de hembras cerrando el ciclo anual (Romero et al., 2006).

### **3.16.5. *Daphnia magna* en laboratorio**

Habiendo visto que los dáfnidos son muy sensibles a las condiciones ambientales y que su ciclo reproductivo se ve afectado por su variación, es conveniente, pues, mantener unas condiciones de cultivo en el laboratorio idóneas para que la población de *Daphnia magna* encuentre su crecimiento óptimo, evitando, en la medida de lo posible, que parámetros como la temperatura, el alimento, la concentración de oxígeno, o la densidad poblacional, dificulten el correcto desarrollo del cultivo, lo cual podría afectar a la obtención de neonatos en buenas condiciones para desarrollar los estudios de toxicidad (Sánchez, 2006).

### **3.17. Importancia de *Daphnias* en ecotoxicología**

En las tres últimas décadas, únicamente un taxón de invertebrados ha emergido como grupo clave para la realización de ensayos ecotoxicológicos: los crustáceos cladóceros y más concretamente los dáfnidos (Calow, 1994). El uso de cladóceros para test de toxicidad está ampliamente extendido porque se trata de organismos cuya amplia distribución geográfica permite disponer de ellos con facilidad, se adaptan bien a las condiciones de laboratorio, requieren poco espacio para su cultivo, su ciclo de vida es corto y, frecuentemente, son uno de los grupos de animales más sensibles a los compuestos químicos (Mokry & Hoagland, 1990).

Dentro de los cladóceros, el género *Daphnia* se encuentra entre los consumidores dominantes de los productores primarios de las aguas dulces (Hebert, 1978).

Buikema et al. (1980), efectuaron una revisión bibliográfica sobre la biología de *Daphnia* y la toxicología de distintos compuestos para este crustáceo cladóceros, describiendo el test de toxicidad para esta especie *Daphnia magna* presenta una serie de ventajas que

la hacen especialmente favorable como organismo bioindicador en dichos ensayos. Su sensibilidad a los tóxicos, su reproducción partenogenética y sus ciclos vital y reproductivo relativamente cortos, facilitan el desarrollo de experiencias de laboratorio presentándose, además, raramente en combinación con otras especies *Daphnia m.* ha sido históricamente utilizada en los test de toxicidad aguda de sustancias químicas en el medio acuático.

### **3.17.1. Usos**

Desde sus comienzos, coincidiendo con la importancia del género *Daphnia* en los estudios ecotoxicológicos, la toxicología acuática se ha servido de este crustáceo cladóceros para efectuar ensayos, tanto *in vivo* como *in vitro*, conducentes a esclarecer el efecto de diversos compuestos con capacidad tóxica en distintos parámetros bioquímicos. La actividad de la enzima acetilcolinesterasa ha sido uno de estos parámetros. Paralelamente al desarrollo creciente de estudios toxicológicos orientados en este sentido, se ha venido incrementando la utilización de *Daphnia magna* como organismo objeto de estos ensayos (Day & Scott, 1990).

Debido a su importancia ecológica y su sensibilidad a ambientes intervenidos, se les considera especies indicadoras de condiciones ambientales adversas. Además, por ser organismos de fácil mantenimiento bajo condiciones de laboratorio, normalmente se utilizan en pruebas de toxicidad acuáticas (Romero et al., 2006).

### **3.18. Evaluación de riesgo ambiental acuático**

En la Evaluación del Riesgo Ambiental Acuático, se examina el Riesgo Potencial de los usos propuestos de los plaguicidas sobre peces, invertebrados y algas acuáticas que no son el objetivo del producto, en ambiente de agua dulce, lo que se define luego de una cuidadosa investigación donde se determina qué ecosistema(s) puede(n) ser significativamente impactado(s) con el plaguicida. En general se puede establecer que la información de toxicidad en especies marinas y de agua dulce puede ser considerada como equivalente (MMAyA, 2020).

### 3.18.1. Determinación del efecto

De la información de toxicología aguda disponible del requerimiento para el Nivel I de la caracterización del riesgo, se selecciona el más tóxico de ellos y se compara con los valores en la siguiente tabla:

**Tabla 4.**

*Categorías toxicológicas para invertebrados acuáticos*

<b>CL<sub>50</sub> Aguda</b>	<b>Categoría</b>
< 0.1	Extremadamente Tóxico
- 1.0	Altamente Tóxico
1.0 – 10	Moderadamente Tóxico
10 – 100	Ligeramente Tóxico
> 100	Prácticamente no Tóxico

**Fuente:** *Manual de Procedimientos de Evaluación Ecotoxicológica de Plaguicidas Químicos De Uso Agrícola (2020)*

Una vez caracterizada toxicológicamente la sustancia, ésta se debe trasladar a la etiqueta y la hoja informativa del plaguicida conjuntamente con el resultado de la caracterización del riesgo, incluyendo el riesgo de Bioacumulación si el BCF > 100 y, el riesgo de persistencia si CL<sub>50</sub> en agua es > 4 días (MMAyA, 2020).

### 3.18.1. Evaluación de la exposición

#### 3.18.1.1. Residuos en el agua

En el inicio del proceso de registro es difícil encontrar información sobre mediciones de residuos en el agua, si tal información estuviese disponible deberán ser incluidos en el informe sobre la evaluación ambiental que se presenta como parte del expediente. En ese mismo informe debe incluirse las estimaciones en el tiempo sobre la exposición acuática a los residuos del plaguicida, acorde con los patrones de uso propuestos (MMAyA, 2020).

### 3.18.1.2. Estimado de la concentración ambiental acuática (EEC)

Se debe establecer la EEC tomando el dato para la aplicación directa al agua de la dosis máxima recomendada para el plaguicida, tomando la profundidad de 2 m como la referencial. Se calcula la EEC (ppb) con el criterio del “peor escenario” (MMAyA, 2020).

Estimated Environmental Concentration = Estimación de Concentración Ambiental

EEC (ppb) = A / B (ppb o ug/ L)

$$EEC \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{2,352 \left( \frac{kg}{ha} \right) \times 10 (ha) \times 0.1 \times 1.000.000 \left( \frac{mg}{kg} \right)}{1 (ha) \times 10.000 \left( \frac{m^2}{ha} \right) \times 2 (m) \times 1000 \left( \frac{L}{m^3} \right)}$$

### 3.18.1.3. Cálculo del cociente de riesgo (RQ)

El cálculo del RQ se establece dividiendo la máxima concentración esperada en el ambiente entre el valor de toxicidad obtenido en condiciones de laboratorio.

$$RQ = \text{Exposición (EEC)} / \text{Toxicidad}$$

## 3.19. Caracterización del riesgo

### 3.19.1. Evaluación por niveles

Se inicia la evaluación con la información procedente de investigaciones de Toxicología Aguda, seleccionando aquél que refleje la mayor toxicidad, con esta información se determina la categoría, la cual debe constar en la etiqueta. En esta etapa se obtiene una idea del potencial toxicológico del plaguicida, el que se establecerá al determinar el riesgo de exposición al relacionar el dato con el estimado teórico de Concentración Ambiental.

### 3.19.2. Nivel I

Determinada la EEC, se calculan los RQ tomando en consideración el valor más crítico de la toxicidad aguda (MMAyA, 2020).

Si el RQ <0,1, entonces se concluye que no hay riesgo práctico, y no se requiere mayor análisis, salvo que el Log10 Kow>3, lo que exigirá las investigaciones de bioconcentración, donde si BCF>100, se requerirán las investigaciones crónicas para afinar la evaluación eco toxicológico en el siguiente nivel de evaluación (MMAyA, 2020).

Pero si el RQ >0,1, entonces se requiere afinar más la evaluación eco toxicológica y es necesario pasar al nivel II de evaluación. En este caso se debe evaluar medidas de mitigación y utilizar leyendas de advertencia en la etiqueta, situación que deberá ser considerada por el Comité ((MMAyA, 2020).

### 3.19.3. Nivel II

Si habiéndose realizado la evaluación de la toxicidad aguda se observa que el plaguicida representa un riesgo mayor al ecosistema acuático se requiere la información crónica, para ello se usa la información detallada en el segundo nivel de evaluación (MMAyA, 2020).

En este nivel se toma en cuenta las pruebas de toxicología crónica. Se debe realizar un cálculo refinado de la EEC (biodegradabilidad, fotólisis, hidrólisis, DT50, DT90, solubilidad) y evaluar del factor de bioacumulación (BCF) (MMAyA, 2020).

De las pruebas consideradas se ha de determinar el NOEC y el MATC crítico y se calculará el correspondiente cociente de riesgo crónico. Si el cociente es < de 1, y el factor de bioacumulación (BCF)  $\leq$  100 no se requiere mayor información de toxicidad; pero si el cociente es mayor o igual a 1 y el BCF > de 100, es necesario pasar a un tercer nivel de Evaluación o un nivel más refinado (MMAyA, 2020).

#### Tabla 5.

*Cocientes de riesgo para la evaluación ecotoxicologica acuática*

Asunción de riesgo	Cociente de riesgo (RQs)	Nivel crítico (LOC)
Agudo Alto	EEC / CL <sub>50</sub> o CE <sub>50</sub>	0.5
Agudo de Uso restringido	EEC / CL <sub>50</sub> o CE <sub>50</sub>	0.1
Agudo Especies en peligro	EEC / CL <sub>50</sub> o CE <sub>50</sub>	0.05
Crónico	EEC / MATC o NOEC	1

**Fuente:** *Principios de revisión de la evaluación de impacto ambiental (1998)*

#### **3.19.4. Nivel III**

En este nivel de evaluación se debe contar con un estimado más refinado de la EEC y en concordancia entre la autoridad nacional competente (ANC) y el interesado se deben establecer los objetivos para definir la prueba simulada de campo y desarrollar el protocolo correspondiente. Se sugiere seguir pautas de la Guía FIFRA 72-7 (Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act) (USEPA de la EPA). Sin embargo, si el interesado cuenta con la prueba ciclo de vida en peces, ésta podrá ser usada en este nivel antes de decidir el realizar una prueba simulada (MMAyA, 2020).

#### **3.19.5. Nivel IV**

Con el objeto de afinar las investigaciones de toxicidad de plaguicidas que aún presentan dudas del impacto en el ecosistema acuático, se debe establecer de manera concordada entre la autoridad nacional competente (ANC), el Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal (VMABCCGDF) y el solicitante, los objetivos específicos de la investigación y el protocolo correspondiente que se ajuste a los lineamientos establecidos en guías de aceptación internacional, se recomienda la Guía FIFRA 72-7 (Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act.) (US de la EPA). Este Protocolo será parte integral del Plan de Manejo Ambiental del Plaguicida (MMAyA, 2020).

Es recomendable desarrollar un procedimiento de monitoreo constante por un periodo preestablecido, el que puede formar parte de la caracterización del riesgo en este nivel.

#### **3.20. Probit**

El método de análisis Probit permite estimar la CE50 (concentración efectiva media) o CL50 (concentración letal media) ajustando los datos de mortalidad mediante una técnica de probabilidad para estimar los valores que siguen una distribución logarítmica de tolerancias. El porcentaje de organismos afectados o muertos por la acción tóxica de una sustancia se transforma a unidades Probit. Esta transformación permite el ajuste a una línea de regresión, en la cual la concentración correspondiente al Probit 0.5 corresponderá a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población. Una de las restricciones del método es que para el cálculo de la

CE50 o CL50 deben obtenerse valores intermedios entre 0 y 100% de mortalidad (Sutter, 1993).

El problema de interés está relacionado con la evaluación de los efectos sobre la abundancia, producción y persistencia de las poblaciones y los ecosistemas. A pesar del limitado alcance de información en ensayos de toxicidad para su extrapolación a escala ambiental, los estudios con organismos en laboratorio, en condiciones controladas y estandarizadas para la evaluación de respuestas, han venido siendo las fuentes de información predominantes para la evaluación ecológica de los efectos de los contaminantes tóxicos (Sutter, 1993).

#### **4. MATERIALES Y METODOS**

##### **4.1. Localización**

Las tres etapas del estudio, se realizaron en diferentes ubicaciones, por un lado, se recolecto especímenes del municipio de Achocalla, comunidad Carcanavi, laguna de almacenamiento de agua, donde se identificaron los organismos para estudio. Específicamente se halla situado a 16°40'45.1" de latitud Sur y 68°01'17.7" de longitud Oeste, situada a unos 10 km de la ciudad de La Paz.

Por otro lado, se realizó encuestas y entrevistas para determinar el plaguicida de mayor incidencia y obtención de datos sobre el riego del lugar, en el municipio de Mecapaca comunidad Avircato - urbanización Villa Linda, ubicado a 26 km de la ciudad de La Paz, situado a 16°40'60" de latitud Sur y 68°1'0" de longitud Oeste.

El estudio y pruebas de laboratorio se realizaron en la Unidad de Ecología Acuática del Instituto de Ecología, ubicado en Cota cota, calle 27, dependiente de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la UMSA, por ultimo las diluciones se realizaron en predios del Laboratorio de Calidad Ambiental (LCA) ya que contaban con el equipo necesario para el manejo tóxicos, situado a 16°32'04" de latitud Sur y 68°03'44" de longitud Oeste y una altitud de 3445 msnm.



## **4.2. Materiales**

### **4.2.1. Material de laboratorio**

Para los cultivos de *Daphnia magna*, se utilizó acuarios con una capacidad de 5 litros cada uno, se contó con gran cantidad de acuarios para separar a las generaciones posteriores, se instaló termostatos, los cuales regulaban la temperatura del agua, difusores de acuarios para la oxigenación, termómetro para monitorear la temperatura del agua de los acuarios, focos fluorescentes para los organismos los cuales requerían horas luz, para la observación de los organismos se utilizó un Estereomicroscopio, y para montar muestras se contó con cajas Petri y pinzas; para la preparación del alimento se contó con un mortero y agua destilada, goteros para manipular a los organismos, separarlos y proporcionales comida, bandejas blancas seleccionadoras para separar los neonatos de los organismos adultos, se instaló un acuario grande con una capacidad de 10 litros, donde se empleó cultivos de Elodea para alimento diario, también poseía un foco fluorescente y difusor de oxígeno, al igual que los organismos en estudio, las Macrófitas se encontraban en condiciones controladas.

### **4.2.2. Materiales de campo**

Para la toma de muestras fue necesario el uso de una red de zooplancton de apertura de malla 50 micras con un extra de cuerda para un mejor alcance, además de frascos de 3 litros, para introducir las muestras captadas en la red.

### **4.2.3. Insumos**

Para las pruebas de toxicidad se adquirió un frasco de plaguicida (STERMIN 600 SL), este insumo fue comprado en la zona Gran Poder, sin ninguna restricción, siendo prohibida la venta dentro del país, al no contar con un registro.

### **4.2.4. Materiales de gabinete**

Se conto con el programa estadístico XLSTAT 2021 el cual poseía la función Probit dentro la bandeja del paquete, posteriormente se procesó los datos obtenidos de las observaciones.

### **4.3. Metodología**

El trabajo fue dividido en tres etapas, las cuales se describen a continuación:

#### **4.3.1. Primera etapa**

En la primera etapa, se realizó la adaptación de las Daphnias en condiciones controladas, para así llegar a una sexta generación pese a los percances y problemas que se presentaron, haciendo que el periodo de estudio se alargue, se tenía previsto realizar la investigación en tres meses como máximo y que por diferentes parámetros se obtuvo una alta mortalidad de los organismos, lo cual provocó que se tomaran varias medidas para poder estabilizar a las generaciones restantes, por tanto el trabajo de investigación tuvo una duración de 4 meses, en la culminación de todas las pruebas, los organismos estaban estables y se terminó con 3 acuarios de sexta generación.

##### **4.3.1.1. Muestreo**

El muestro se realizó en el reservorio de agua de la comunidad Carcanavi ubicada en el municipio de Achocalla, usando una red planctónica la cual tiene forma de cono invertido, la malla de la trampa 50 micras de diámetro que nos ayuda a captar macroorganismos y escurrir el agua, la técnica estuvo basada en el lanzamiento de la red de forma horizontal, donde el arrastre de la red recolectora toma muestra de columna de agua quedando macroorganismos y algas, también se aplicó la técnica por arrastre en la superficie de la laguna con 3 repeticiones, las muestras se colectaron en frascos de 3 litros con boca ancha para poder sumergir las muestras en agua extraída de la laguna de igual forma volcando el contenido de la red, donde por simple observación se corroboró la existencia de diferentes macroorganismos entre ellos las pulgas acuáticas.

##### **4.3.1.2. Adaptación**

Las muestras recolectadas fueron trasladadas al laboratorio de la unidad de Limnología, se realizó la separación de las muestras, se implementaron dos acuarios donde fueron clasificados en especímenes pequeños (acuario B) y especímenes grandes (acuario A).

Para el llenado de los acuarios se utilizó agua potable clorada, exponiendo las bañeras con agua potable al sol durante 3 a 4 horas aproximadamente, se aplicó este método a falta de disponibilidad de agua.

Se monitoreo la temperatura diariamente, cabe destacar que las pulgas acuáticas son capaces de sobrevivir a temperaturas extremas y tomando en cuenta la resistencia que poseen no se les proporciono termostatos ni difusores de oxígeno en las primeras semanas, se realizó las observaciones respectivas diariamente para corroborar la existencia de mortalidad o reproducción.

#### **4.3.1.3. Descripción de la reproducción de generaciones**

En las primeras semanas se observó adaptabilidad de los organismos en los acuarios, se tomó en cuenta aspectos como la alimentación y las horas luz, proporcionándoles condiciones estables para su reproducción.

##### **4.3.1.3.1. Primera generación**

Para nombrar a la primera generación se realizó la separación en los acuarios A y B los cuales poseían organismos juveniles producto de la reproducción en ambos acuarios, se realizó la transferencia nuevos acuarios, donde se las nombró como primera generación.

##### **4.3.1.3.2. Generaciones posteriores**

A lo largo del estudio se presentaron diferentes factores que impidieron la reproducción inmediata, dichos indicios fueron observados, tomando en cuenta que los especímenes estaban en la etapa de adaptación en condiciones controladas, la presencia de quistes, donde los organismos se encriptan al encontrarse en condiciones desfavorables, esto puede deberse a mayor cantidad poblacional, exceso de alimento o poca luz, siendo un mecanismo de supervivencia donde los organismos entran en un periodo de dormancia, hasta lograr estabilizarse condiciones óptimas, para posteriormente eclosionar.

Por otro lado, la temperatura fue otro factor para estabilización de los organismos en los diferentes acuarios, es por eso que se instaló en primera instancia un termorregulador, donde se observó que no fue suficiente para mantener a las poblaciones con temperaturas estables ya que existía una variación, es por eso que se instaló termostatos

en cada acuario, donde la temperatura constante fue de 20°C, es así que se observó cambios positivos en las poblaciones de cada acuario. Por último, el agua utilizada fue una limitante para la reproducción en las poblaciones a causa de la formación de hongos y la presencia de fleumosidad en el agua, causando mortalidad de las poblaciones en los acuarios, se recolecto agua de Huatajata (Lago Titicaca) y de la laguna artificial (jardín botánico), se realizó cambios de agua día por medio y la desinfección para eliminar la presencia de hongos, es así que las poblaciones de especímenes mantuvieron estabilidad, alcanzando las generaciones requeridas para aplicar los bioensayos.

#### **4.3.1.4. Desinfección de acuarios e implementos**

El método de desinfección que se implementó para eliminar la presencia de hongos en los acuarios, se basó en realizar el lavado de los acuarios con agua potable e incluir sal yodada en lugar de detergente, para posteriormente enjuagar con abundante agua eliminando por completo la sal, el secado con papel absorbente, roseando con alcohol y fuego para realizar la flameada durante unos segundos, por último, nuevamente el enjuague con agua, este procedimiento se repetía en cada cambio de agua, lo que significaba día por medio, es así que la presencia de hongos fue disminuyendo considerablemente y preservando el agua por más tiempo, incrementando la producción de nuevos organismos.

El mismo procedimiento fue aplicado a los implementos los cuales consistían en difusores de oxígeno tanto las pastillas como las mangueras conductoras de oxígeno, termostatos de vidrio y forma tubular con sus respectivos implementos de fijación, donde se alojaban los hongos, dejando reposar en agua con sal, posterior al enjuague y secado, se instalaban en los acuarios.

#### **4.3.1.5. Separación de generaciones**

Para realizar la separación de las generaciones, se tomó en cuenta la población en los acuarios, es decir, presencia de especímenes adultos y/o juveniles, por simple observación, puesto que los organismos maduros presentaban un tamaño superior, además de la coloración, siendo los organismos juveniles translúcidos a diferencia de los adultos que poseían una coloración rosácea.

Al transferir los especímenes del acuario a la bandeja blanca - plana se podía observar con más claridad a la población del acuario, el color de la bandeja incrementaba la visibilidad de los organismos.

La separación de especímenes, consistió en tomar un vaso con agua filtrada y con la ayuda de un gotero seleccionar a los organismos adultos y transferirlos al vaso, puesto que los organismos juveniles y neonatos no eran percibidos con facilidad, es por eso que se realizaba la separación de los adultos, al obtener los organismos adultos se transferían a un nuevo acuario desinfectado y con agua filtrada, el agua restante de la bandeja con la presencia de organismos juveniles y neonatos, eran transferidos al mismo acuario, esperando completar su desarrollo y así llegar a un estadio de madurez para poder reproducirse, es donde fue clasificado como una nueva generación siendo organismos en pleno crecimiento.

#### **4.3.1.6. Macrófitas para alimento**

El alimento fue indispensable para mantener a los organismos estables, es por eso que se proporcionó plantas acuáticas (*Elodea*) para alimento, las cuales habitan principalmente en el lago Titicaca, comunidad de Huatajata que está ubicada a orillas del lago.

##### **4.3.1.6.1. Cultivo de *Elodea***

Al contar con las macrófitas dentro del laboratorio, estas eran introducidas en un acuario de vidrio de 10 litros de capacidad con medidas de 90 cm de largo y 40 cm de ancho, sumergiéndolas en aguas del lugar (lago) y manteniéndolas en condiciones controladas, al igual que las *Daphnias* se les proporcionaba luz con un foco fluorescente instalado encima del acuario y un difusor de oxígeno, el indicador de adaptabilidad en el caso de las algas era la presencia nuevas ramas y raíces, en cuanto a la temperatura, se encontraban en un promedio de 15°C y las horas luz diarias fueron de 5 a 7 horas. Por otro lado, fueron varias ocasiones en las que se trajeron macrófitas del lago, debido a la inadaptabilidad, el agua de laguna (jardín botánico) fue otra opción para el llenado del acuario puesto que no se contaba con gran cantidad de agua del lago, los cambios de agua y limpieza se realizaban una vez a la semana, esto por la presencia de hongos, de

igual forma se requería de la desinfección del acuario para controlar la presencia de hongos.

#### **4.3.1.7. Dieta**

El protocolo para proporcionar la dieta a los especímenes, fue el siguiente:

El cultivo de *Elodea* con el que se contaba en laboratorio poseía ramificación, realizando cortes en distintas ramas, puesto que se requería 3 a 4 ramas, seleccionando las de coloración verde intenso, se procedía a moler en un mortero hasta obtener una textura consistente agregando agua destilada a la mezcla, posteriormente el filtrado del contenido se realizó con una malla de apertura de 50 micras, quedando el líquido verde; con un gotero se procedía a la separación del líquido para suministrar a cada acuario entre 5 a 7 gotas, tomando en cuenta la cantidad poblacional de los acuarios, donde en una población grande se agregaba hasta 9 gotas controlando que no sea excesivo ya que estos organismos al ser sensibles, corrían el riesgo de enquistarse en presencia de exceso de macrófitas o exceso de población, es por eso que se monitoreaba constantemente.

El alimento en las primeras semanas fue almacenado en un frasco con tapa hermética y refrigerado una vez molido, se observó indicios de descomposición a pesar de la refrigeración, es por eso que se realizaba el procedimiento de forma diaria, con el fin de mantener una dieta optima en los organismos.

#### **4.3.1.8. Limpieza**

La limpieza en los acuarios fue constante, como se describió anteriormente el ataque de hongos causó la eliminación de varios acuarios y la alta mortalidad de los especímenes, por ese motivo, el cambios de agua en los acuarios se realizaban día por medio, la eliminación de sedimento acumulado fue a diario, existiendo restos de macrófitas del alimento, de igual manera se vertía el contenido de los acuarios en la bandeja seleccionadora y con la ayuda de un gotero se extraía el sedimento de macrófitas.

Para el cambio de agua se debía extraer a todos los organismos y pasarlos a un vaso precipitado con agua ya filtrada, desechando el agua restante del acuario, posterior a la desinfección, se realizaba el llenado del acuario con agua ya filtrada, instalando los

implementos lavados y desinfectados, se transferían a los organismos del vaso precipitado al acuario con el agua limpia. Este procedimiento fue aplicado para el acuario de las macrófitas de igual forma, al existir presencia de hongos, aplicando el mismo procedimiento, con la diferencia de limpieza la cual se realizaba una vez por semana.

#### **4.3.1.9. Temperatura**

La temperatura fue monitoreada en todo el proceso del estudio ya que una de las causas de mortalidad de los individuos fue el descenso de temperatura, se sabe que estos organismos para lograr reproducirse deben encontrarse a temperaturas de entre 18 a 20°C, mantenerlos a una temperatura estable fue la primera medida que se tomó ya que la temperatura constante en laboratorio oscilaba entre 15-17°C.

Terminando el mes de abril las temperaturas empezaron a descender donde la temperatura constante oscilaba entre los 14°C, por lo que se instaló un termorregulador para ayudar a mantener la temperatura del ambiente dentro el laboratorio, para verificar este método se media la temperatura el día posterior, esto al momento de ingresar al laboratorio, se observó que mantuvo en un rango óptimo de 15-16°C, el problema radico en los fines de semana, donde no existía manera de programar el termorregulador y nuevamente se observaba la mortalidad de los organismos provocando la eliminación de acuarios, es donde se implementó termostatos, los cuales mantuvieron constante la temperatura en los acuarios, 20°C, bastante óptimo para lograr su reproducción.

#### **4.3.2. Segunda etapa**

Esta etapa se realizó en la comunidad de Avircato - urbanización Villa Linda, ladera sur de Mecapaca del departamento de La Paz, con una altitud de 2864 msnm, parte de la nueva carretera a Cochabamba, zona productora con un clima óptimo para la producción. Se llevo a cabo las encuestas a los productores del lugar, esta urbanización cuenta con 18 productores, donde el área de los terrenos para la producción está delimitada por 300 metros cuadrados siendo el área base de los productores ya que cuentan con varios terrenos para la producción, siendo el principal problema de los cultivos el ataque de las diferentes plagas principalmente de insectos y hongos, donde el método más factible para la eliminación es el uso de plaguicidas químicos, los productos más comunes son:

Gazare, Tilt, Stermin, Ditazeb, karate, Cypertrin, Garret, usando el producto de manera preventiva y en presencia de plagas.

Se solicitó la colaboración de los productores en el llenado de las encuestas, al darse curso a dicha solicitud se procedió con las encuestas. De los 18 productores se aplicó la encuesta a 12 productores, este dato representó el 67% del total de productores dentro la comunidad que se tomó como área de estudio, de los cuales 9 de ellos coincidieron con el producto que les resultó eficaz para combatir la presencia de plagas, este número representó un 75% del total de productores encuestados, es así que se determinó el producto más usado en la comunidad de Avircato.

Se realizó entrevistas a productores del lugar para la obtención de información del riego en la urbanización y datos como la frecuencia de riego en los cultivos, el tiempo de riego, si se realizan rotación de cultivos. Asimismo, se elaboró una cedula de cultivos, estimándose el área total de cultivos del lugar.

El caudal de la acequia de la localidad de Avircato – urbanización Villa Linda, se determinó mediante el método del flotador. Para ellos se tomó un tramo recto del canal de riego de 10 metros de longitud, tomándose los extremos como punto A y B.

Como flotador se usó una pelota pequeña de poco peso, registrándose el tiempo de recorrido desde el punto A al punto B con un cronometro, por tres veces, posteriormente se llevó acabo la toma de datos de la sección del canal en el punto A y B (profundidad y ancho de canal, previa subdivisión en cinco subsecciones, para posteriormente sumar estas subsecciones) y promediar las secciones. Posteriormente se aplicó la fórmula de caudal:

$$Q= A * V * FC (1)$$

Donde:

Q= caudal

A= área

V= velocidad

FC = factor de corrección (para canal de tierra 0.70)



Tiempo  $T = \frac{T_1+T_2+T_3}{3}$  (2)

Velocidad  $V = \frac{d}{T}$  (3)

Área  $A = \frac{A_1+A_2}{2}$  (4)

#### 4.3.3. Tercera etapa

En la etapa final, se realizaron las pruebas con el plaguicida determinado en la localidad de Avircato. El producto para las pruebas fue buscado en varios puntos de venta de agroquímicos, de los cuales muchos no disponían del producto al ser prohibido para la venta, sin embargo, fue adquirido sin ninguna restricción.

Fue importante contar con la generación de organismos requerido, es por eso que la última etapa estaba sujeta a la producción de la sexta generación, además de una cantidad considerable de organismos en etapa adulta.

#### 4.3.4. Cálculo de la solución madre

Para realizar la preparación de la solución madre, se adicionó como soluto agua destilada, se realizó el cálculo del volumen inicial al contar con los datos complementarios, la concentración final del soluto se llevó al 100% es decir, 1 litro o 1000ml para poder fraccionar a partir de la concentración máxima, en cuanto la concentración inicial ya calculada, es el dato del producto formulado transformado anteriormente a mg/l y por último el volumen final el cual será el soluto el cual será de 500ml.

El producto formulado o disolvente poseía una concentración de 600 g/l

Transformando a mg/l:  $600 \frac{g}{l} \times \frac{1000mg}{1g} = 6 \times 10^5 mgL^{-1}$

Fórmula:  $C_1 * V_1 = C_2 * V_2$

Donde:

$C_1 =$  concentración del producto formulado:  $6 \times 10^5 mgL^{-1}$

$V_1 = ?$

$C_2 =$  se llevó al 100% es decir  $1000 \text{mgL}^{-1}$

$V_2 =$  500ml de agua destilada

$$V_1 = \frac{C_2 * V_2}{C_1}$$

Reemplazando los datos:

$$V_1 = \frac{1000 \text{mgL}^{-1} * 500 \text{ml}}{6 * 10^5 \text{mgL}^{-1}} = 0.83 \text{ml}$$

Entonces al obtener el volumen inicial, se pudo realizar la preparación de la solución madre, donde en 500ml de agua destilada se puso 0.83ml del producto formulado esto se realizó en un matraz aforado.

#### 4.3.5. Diluciones

A partir de la solución madre se procedió a realizar las diluciones a fin de disminuir la concentración, donde se utilizaron tres matraces aforados de 100 ml para realizar las alícuotas, cada matraz aforado estuvo rotulado de la siguiente manera:  $100 \text{mgL}^{-1}$ ,  $10 \text{mgL}^{-1}$ ,  $1 \text{mgL}^{-1}$  donde se puso una alícuota de 10ml en cada matraz, esto quiere decir que se puso al primer matraz una alícuota de 10 ml de la solución madre que se complementó con agua destilada (D1), seguidamente se extrajo nuevamente una alícuota de 10 ml de la primera mezcla y se la complemento con agua destilada (D2) y por último se extrajo una alícuota de 1 ml en el tercer matraz complementando con agua destilada, para extraer la solución madre se utilizó micropipetas de 10 ml.

**Tabla 6.**

*Diluciones seriadas en tres matraces aforados*

Dilución	Matraz aforado	Solución Madre + agua destilada
D1	100ml	10ml (a) + agua destilada
D2	10 ml (a)	10 ml (b) + agua destilada
D3	1 ml	10 ml + agua destilada

**Fuente:** *Elaboración propia (2021)*

Por último, se tomó la dilución (D<sub>2</sub>) que fue de  $10 \text{mgL}^{-1}$  para usarlas en las diluciones, es decir es la  $C_1$  para los cálculos posteriores.

#### 4.3.6. Cálculo de las concentraciones

Para realizar el cálculo de las concentraciones, se tomó los datos encontrados en bibliografía y en la ficha técnica del producto formulado (etiqueta) donde indica que la  $CL_{50}$  en *Daphnia magna* es de  $0.026 \text{ mgL}^{-1}$  por tanto se tomó como la concentración media a usar, posteriormente se obtuvieron dos concentraciones altas y dos bajas en base a la concentración media, es decir subiendo exponencialmente, por lo que la siguiente concentración fue dos veces más alta que la concentración media y la última fue cuatro veces más alta que la concentración media, siendo esta la concentración más alta, en el caso de las concentraciones bajas se fracciono de la misma manera partiendo de la concentración media y fraccionando dos veces y cuatro para la concentración más baja, el segundo dato se obtuvo en el punto anterior donde la concentración inicial a tomar será  $10 \text{ mgL}^{-1}$ .

Para determinar las concentraciones se multiplico exponencialmente para las concentraciones altas y se fracciono entre 2 y entre 4 para las concentraciones bajas, como se muestra en la tabla.

**Tabla 7.**

*Obtención de concentraciones mediante cálculos*

Conc. mínima	Conc. baja	Conc. media	Conc. alta	Conc. máxima
$0.006 \text{ mgL}^{-1}$	$0.013 \text{ mgL}^{-1}$	$0.026 \text{ mgL}^{-1}$	$0.052 \text{ mgL}^{-1}$	$0.104 \text{ mgL}^{-1}$

**Fuente:** *Elaboración propia (2021)*

Cálculo del volumen para la dilución media:

$C_1: 10 \text{ mgL}^{-1}$

$V_1: ?$

$C_2: 0.026 \text{ mgL}^{-1}$

$V_2: 500 \text{ ml}$

$$V_1 = \frac{0.026 \text{ mgL}^{-1} * 500 \text{ ml}}{10 \text{ mgL}^{-1}} = 1.3 \text{ ml}$$

En 500ml de agua destilada se incorporó 1.3 ml de la solución madre, se realizó el mismo procedimiento para las concentraciones posteriores.

Para las dos concentraciones mayores se realizó los siguientes cálculos:

Cálculo del volumen para la concentración alta:

$$C_1: 10 \text{ mgL}^{-1}$$

$$V_1: ?$$

$$C_2: 0.052 \text{ mgL}^{-1}$$

$$V_2: 500 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0.052 \text{ mgL}^{-1} * 500 \text{ ml}}{10 \text{ mgL}^{-1}} = 2.6 \text{ ml}$$

En 500ml de agua destilada se incorporó 2.6 ml de la solución madre, donde esta concentración es considerada un poco más alta que la media.

Cálculo del volumen para la Concentración máxima:

$$C_1: 10 \text{ mgL}^{-1}$$

$$V_1: ?$$

$$C_2: 0.104 \text{ mgL}^{-1}$$

$$V_2: 500 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{0.104 \text{ mgL}^{-1} * 500 \text{ ml}}{10 \text{ mgL}^{-1}} = 5.2 \text{ ml}$$

En 500ml de agua destilada se incorporó 5.6 ml de la solución madre, donde esta fue la concentración máxima de las cinco.

Para las dos concentraciones inferiores se realizó los siguientes cálculos:

Cálculo del volumen para la concentración baja:

$$C_1: 10 \text{ mgL}^{-1}$$

$$V_1: ?$$

$$C_2: 0.013 \text{ mgL}^{-1}$$

V<sub>2</sub>: 500ml

$$V_1 = \frac{0.013 \text{mgL}^{-1} * 500 \text{ml}}{10 \text{mgL}^{-1}} = 0.65 \text{ ml}$$

En 500ml de agua destilada se debía incorporar 0.65 ml de la solución madre, donde esta concentración es más baja que la solución media

Cálculo del volumen para la concentración mínima:

C<sub>1</sub>: 10mgL<sup>-1</sup>

V<sub>1</sub>: ?

C<sub>2</sub>: 0.013 mgL<sup>-1</sup>

V<sub>2</sub>: 500ml

$$V_1 = \frac{0.006 \text{mgL}^{-1} * 500 \text{ml}}{10 \text{mgL}^{-1}} = 0.03 \text{ ml}$$

En 500ml de agua destilada se incorporó 0.03 ml de la solución madre, donde esta concentración es la más baja o mínima entre las cinco concentraciones determinadas.

### Tabla 8.

*Concentraciones finales y los volúmenes de dilución*

Concentración	0.006 mgL <sup>-1</sup>	0.013 mgL <sup>-1</sup>	0.026 mgL <sup>-1</sup>	0.052 mgL <sup>-1</sup>	0.104 mgL <sup>-1</sup>
Volumen					
Diluciones	0.3 ml	0.65 ml	1.3 ml	2.6 ml	5.2 ml

**Fuente:** *Elaboración propia (2021)*

#### 4.3.7. Preparación de las Diluciones en laboratorio

Con los datos calculados y la metodología clara, se procedió a realizar las diluciones en instalaciones del instituto de calidad ambiental (LCA) donde se proporcionó el espacio y el material necesario para las diluciones además del preparado de las concentraciones.

Como primera medida se puso el material en la campana del extractor, se procedió a destapar el producto, la primera preparación fue la solución madre, donde se llevó el producto a un 100%, es decir que en 500ml de agua destilada, se aplicó 0.83 mgL<sup>-1</sup> del producto formulado, el cual se obtuvo mediante cálculos y a partir de esto, se realizó el

seriado con la solución madre, donde se tomaron 10 ml de la solución madre, transfiriendo a un matraz aforado, mezclando con agua destilada, nuevamente se extrajo 10 ml del primer matraz ya diluido, se transfirió a un nuevo matraz donde se mezcló de la misma manera con agua destilada y por último se tomó 1 ml de la última mezcla con agua destilada y es así que disminuyó la concentración del producto formulado, se tomó la segunda dilución para las mezclas a diferentes concentraciones.

Se prepararon 10 frascos de 500ml para las cinco concentraciones y por cada concentración se obtuvo 1 litro es decir dos frascos de 500 ml por concentración, las diluciones se realizaron en matraces aforados y posteriormente transferidos a frascos herméticos. Una vez obtenidas todas las diluciones se trasladó toda la preparación nuevamente al laboratorio de limnología donde se inició con los bioensayos.

#### **4.3.8. Prueba de mortalidad**

Según los protocolos de bioensayos para pulgas acuáticas (*Daphnia magna*), son sometidas a diferentes concentraciones del contaminante y diluidas con agua destilada, donde el monitoreo de mortandad comprende de 24 a 48 horas. Para realizar la prueba se tomó varios parámetros, uno de ellos fue la prueba de la mortalidad, ya que el agua destilada posee un Ph neutro y al ser pura no posee ningún tipo de nutriente, es limpia de electrolitos, sales minerales, microorganismos y otras sustancias contaminantes, el cual puede ser perjudicial para los organismos y es por eso que se sometió a un control de mortalidad con agua destilada, se puso a 5 organismos en un vaso de 50 ml con agua destilada y se observó si presento cambios, a partir de las 48 horas, se les proporcionó alimento y no se observó mortalidad en 72 horas. Dado que los organismos se mantuvieron vivos, se procedió a trabajar con agua destilada, además de tomar datos de temperatura a 72 horas se encontraron estables sin ningún cambio.

#### **4.3.9. Procedimiento de bioensayos**

Un día antes de cada prueba se realizó el preparado del material a utilizar, el cual consistía en vasos de precipitado de 50ml y 100ml, bandeja blanca, goteros, vidrios para tapar los vasos, los cuales estaban debidamente lavados y esterilizados, por otro lado,

las diluciones encontradas en botellas de 500ml en total 11 botellas ya que cada concentración poseía dos botellas de 500ml y la última botella contenía solución madre.

Para cada prueba se vertía la bandeja blanca para la selección de los organismos de la sexta generación en etapa adulta, se transfería a un vaso de precipitado de 100ml a los organismos seleccionados, con la ayuda de un gotero se contaban 5 organismos para incluir a cada vaso de precipitado de 50ml.

Los vasos de precipitado de 50 ml, fueron llenados con las diluciones de cada concentración, es decir que para cada concentración se contaba con 5 vasos ya rotulados (la concentración en la parte superior y el número de repetición correspondiente en la parte inferior del masquín).

Se incorporó a los 5 organismos en cada vaso, se realizó el mismo procedimiento para las muestras testigo las cuales poseían agua destilada, haciendo un total de 6 vasos por concentración.

El momento de sumergir a todos los especímenes en cada concentración, se tomaba el dato de la hora, para contabilizar los cambios de mortalidad a diferentes horas.

Se tomó datos de 6, 8, 24, 30, 32,48 horas, describiendo los cambios observados en cada vaso, como el número de organismos muertos, tanto en los vasos con las diferentes concentraciones, como los controles; en todas las muestras se estimulaba a los especímenes que se encontraba inmóviles, usando un gotero. El mismo procedimiento se realizó en los demás bioensayos.

#### **4.3.10. Análisis estadísticos**

Para procesar los datos obtenidos de cada prueba, se aplicó la función Probit, parte del paquete estadístico XLSTAT el cual es integral y de fácil manejo, posee varias funciones una de ellas el cálculo de la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) o la concentración letal media ( $CL_{50}$ ), se tomaron datos de las diferentes horas en cada bioensayo, los datos requeridos fueron: la cantidad de individuos total por concentración, además de la hora de observación y por último la dosis, en este caso las concentraciones utilizadas.

#### 4.3.11. Diseño experimental

En el presente trabajo de investigación, se empleó el Diseño completamente al azar (DCA), se trabajó con 5 concentraciones, las cuales contaban con sus respectivas repeticiones con un número de cinco por concentración, además de los testigos absolutos para cada tratamiento, dando como resultado un total de 25 unidades experimentales.

Modelo lineal:

El modelo lineal para el diseño completamente al azar es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

i= concentraciones

j= repeticiones

$Y_{ij}$  = número de organismos muertos en la ij-ésima unidad experimental

$\mu$  = media general de organismos muertos

$T_i$  = efecto de la i-ésima concentración en el número de organismos muertos

$\epsilon_{ij}$  = error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental

Tratamientos:

$T_1 = 0.104 \text{ mgL}^{-1}$

$T_2 = 0.052 \text{ mgL}^{-1}$

$T_3 = 0.026 \text{ mgL}^{-1}$

$T_4 = 0.013 \text{ mgL}^{-1}$

$T_5 = 0.006 \text{ mgL}^{-1}$

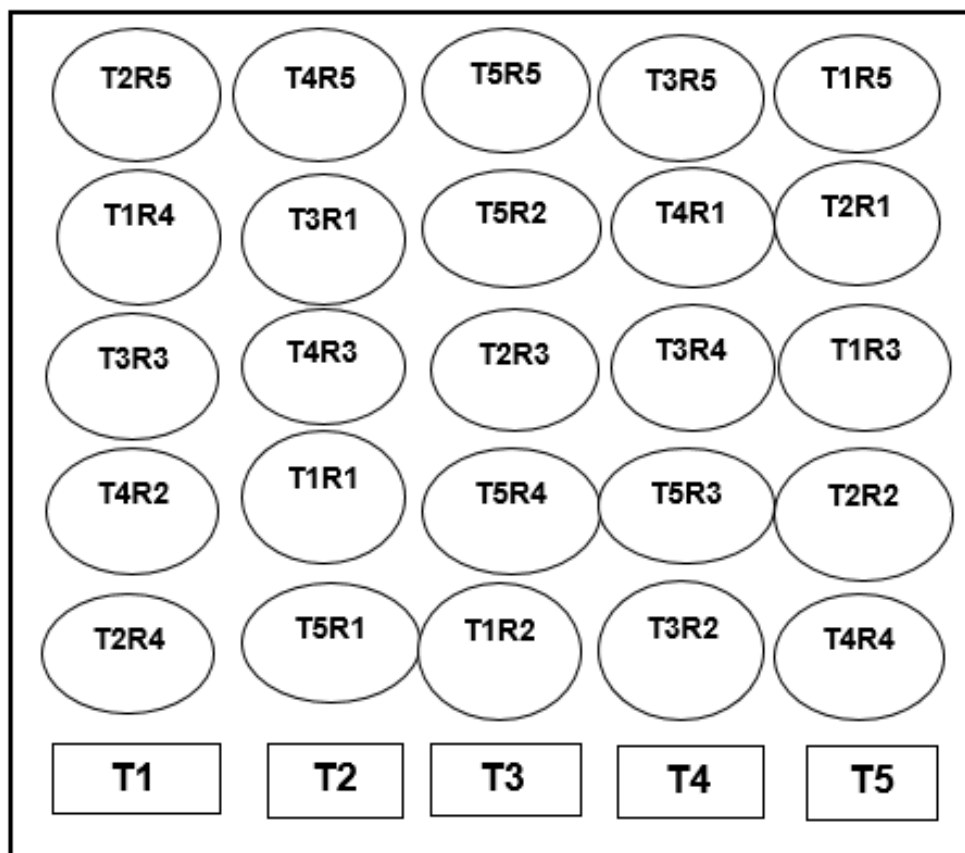
La unidad experimental de la investigación fueron vasos de precipitado de 50 ml, las muestras contaron con los especímenes, cada unidad experimental conto con cinco especímenes, haciendo un total de 25 organismos por tratamiento, el total poblacional



fue de 125 especímenes, cada tratamiento contó con su muestra testigo, como se describe en el croquis de laboratorio.

**Figura 4.**

*Croquis de laboratorio*



Fuente: Elaboración propia (2021)

#### 4.4. Evaluación de riesgo ambiental acuático (ERA)

Basado en el Manual Técnico Andino, se trabajó con la etiqueta del producto formulado, donde se debía obtener la dosis máxima como primera medida:

Tenemos el dato de la dosis recomendada la cual es 2.00 l/ha y el número de aplicaciones indica que se puede repetir la aplicación en caso de infestación es por eso que se tomó como dos aplicaciones, estos dos valores deben ser multiplicados.

El resultado obtenido se multiplica nuevamente por la concentración del ingrediente activo, que en este caso es 600 g/l.

Al obtener el dato de la dosis máxima, se procede a calcular la concentración ambiental estimada (EEC), aplicando la fórmula:

$$EEC \left( \frac{mg}{L} \right) = \frac{dosis\ max \left( \frac{kg}{ha} \right) \times 10 \ (ha) \times 0.1 \times 1.000.000 \left( \frac{mg}{kg} \right)}{1 \ (ha) \times 10.000 \left( \frac{m^2}{ha} \right) \times 2 \ (m) \times 1000 \left( \frac{L}{m^3} \right)}$$

Al obtener el valor de EEC se procede a calcular el cociente de riesgo (RQ), donde se divide la EEC con la toxicidad que se obtuvo en condiciones de laboratorio:

$$RQ = \text{Exposición (EEC)} / \text{Toxicidad}$$

Es aquí donde se toma el siguiente criterio, si el resultado obtenido de  $RQ < 0.1$  se concluye que no existe riesgo, en caso de que  $RQ > 0.1$  se requiere afinar la evaluación, pasando a un segundo nivel, indicado por el manual técnico andino.

## 5. RESULTADOS y DISCUSIÓN

### 5.1. Primera etapa

Según Gardiner (1978), los dáfnidos son de color transparente en el medio natural, pero en ambientes con escasez de oxígeno, adoptan un ligero tono rosado por la síntesis de hemoglobina para aumentar la eficacia en la captación del escaso oxígeno ambiental.

En la parte experimental de adaptación en *Daphnias* en condiciones controladas, se observó que la coloración siempre fue un tono rosado ligero tanto en su medio natural como en condiciones controladas, dado que se les proporciono alimento, temperatura y oxígeno, donde se vio reflejado en la reproducción que se obtuvo, se puede confirmar que los organismos presentan cierta transparencia o completa transparencia en la etapa de neonatos o juveniles, donde se observó que en el proceso de su desarrollo, empezaban a tomar un color más rosáceo siendo uno de los indicios indicadores de la etapa adulta, además del tamaño.

## Figura 5.

*Pulgas de agua adultas en vaso de precipitado*



**Fuente:** Elaboración propia (2021)

### 5.2. Segunda etapa

En la segunda etapa, se determinó el producto con el cual se trabajó, STERMIN 600 SL un organofosforado de ingrediente activo Methamidophos, el producto no cuenta con el registro dentro del país, por tanto, su venta es prohibida.

Según Wood (2004), los organofosforados son generalmente ésteres de ácido fosfórico sustituidos, se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente que los organoclorados, pero más peligrosos debido a que tienen un grado alto de toxicidad, son biodegradables y no se acumulan en el organismo.

En los resultados obtenidos de la evaluación de riesgo ambiental acuático, se obtuvo que el producto formulado STERMIN 600 SL es extremadamente tóxico, sin embargo, se cita que el ingrediente activo es biodegradable a corto plazo y no se acumula en el organismo o en el ambiente, al ser biodegradable se sintetiza sin permanencia en el ambiente. Al realizar un buen manejo y sobre todo aportando a que el productor pueda controlar la plaga que afecta a su cultivo se podría aplicar normas y protocolos de manejo para autorizar alternativas en vista de que los cultivos tengan un grado de infestación.

En la etiqueta y hoja de seguridad del producto formulado (STERMIN 600 SL) la composición química, consta de:

- Methamidophos 600g/l
- Dietilenglicol y humectantes 570g/l

El (dietilenglicol) DEG es ampliamente utilizado como anticongelante, líquido para frenos, lubricante, aditivos para textiles, agroquímicos y biocidas, sin embargo, debido a su toxicidad para humanos y animales, siendo una sustancia peligrosa, clasificado como sustancia nociva si se ingiere (Schep et al., 2009).

Uno de los componentes que incrementa la toxicidad es el dietilenglicol, información que no se muestra en el producto formulado, si bien se dijo que un organofosforado es biodegradable pero este compuesto es el adherente para que el producto permanezca por más tiempo en el área de aplicación, la información que se obtiene en fuentes oficiales es de los ingredientes activos, en este caso de Metamidofos y no así del producto formulado en este caso (STERMIN 600 SL), dada la información, se puede citar que este producto formulado es altamente peligroso por la formulación que posee y no solo por la presencia del ingrediente activo (Metamidofos).

### 5.2.1. La práctica del riego y su rol en la contaminación por plaguicidas

Se obtuvo el caudal del canal de riego mediante el método del flotador, donde

Se determinó el caudal del canal de riego:

$$\text{Tiempo (2)} \quad t = \frac{18+18+17}{3} = 17.66 \text{ (s)}$$

$$\text{Velocidad (3)} \quad v = \frac{10 \text{ m}}{17.66 \text{ (s)}} = 0.57 \text{ m/s}$$

Área punto A

$$\text{Ancho} = 0.38 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 1} = 0.38 \text{ (m)} * 0.15 \text{ (m)} = 0.057 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 2} = 0.38 \text{ (m)} * 0.19 \text{ (m)} = 0.072 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 3} = 0.38 \text{ (m)} * 0.20 \text{ (m)} = 0.076 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 4} = 0.38 \text{ (m)} * 0.20 \text{ (m)} = 0.076 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 5} = 0.38 \text{ (m)} * 0.15 \text{ (m)} = 0.057 \text{ (m)}$$

$$\Sigma = 0.34 \text{ m}^2 / 5 = 0.068 \text{ m}^2$$

Área punto B

$$\text{Ancho} = 0.57 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 1} = 0.57 \text{ (m)} * 0.10 \text{ (m)} = 0.057 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 2} = 0.57 \text{ (m)} * 0.19 \text{ (m)} = 0.11 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 3} = 0.57 \text{ (m)} * 0.21 \text{ (m)} = 0.12 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 4} = 0.57 \text{ (m)} * 0.20 \text{ (m)} = 0.11 \text{ (m)}$$

$$\text{Sección 5} = 0.57 \text{ (m)} * 0.11 \text{ (m)} = 0.06 \text{ (m)}$$

$$\Sigma = 0.457 \text{ m}^2 / 5 = 0.091 \text{ m}^2$$

$$\text{Área total} \quad A = \frac{0.068 \text{ m}^2 + 0.091 \text{ m}^2}{2}$$

$$A = 0.080 \text{ m}^2$$

$$\text{Caudal (1)} \quad Q = 0.080 \text{ m}^2 * 0.57 \text{ m/s} * 0.70 \quad Q = 0.032 \text{ m}^3 / \text{s} * 1000 \quad Q = 32 \text{ l/s}$$

Tomando en cuenta el dato de 32 l/s del caudal el cual abarca 1 metro cuadrado, siendo el riego para 32 Ha, donde se puede complementar con un riego presurizado y/o de goteo, descartando el riego por acequia el cual provoca mayor contaminación a los cultivos.

En la tabla 13 se muestra información sobre la rotación de cultivos, aplicación de plaguicidas, precipitación y riego, en la comunidad de Avircato – urbanización Villa Linda.

**Tabla 9.**

*Información riego y cultivos en la comunidad de Avircato - urbanización Villa Linda*

<b>Rotación de cultivos</b>	Primer cultivo: Choclo y verduras (compactación del suelo) Segundo cultivo: Cebada (suaviza el terreno) Nuevamente primer cultivo: Choclo y verduras
<b>Aplicación de plaguicida</b>	Tiempo de calor (agosto, septiembre, octubre y noviembre) Fumigación cada 8 días. Clima templado (mayo, junio y julio) una vez al mes o cada 15 días.
<b>Lluvia</b>	En el área de cultivos llueve muy poco a causa de la serranía en el lado sur y este.
<b>Tiempo de helada</b>	Se dan en los meses de mayo, junio y julio riego constante por las noches (choclo y cebada)
<b>Cedula de cultivos</b>	Principales cultivos: Maíz (choclo) y Cebada variedad de flores: popelina, manzanilla, girasol hortalizas y verduras: zanahoria, nabo, remolacha, lechuga coliflor, repollo, acelga, perejil, apio.
<b>Tiempo de riego</b>	30 min.
<b>Frecuencia de riego</b>	Dos veces por semana el riego

**Fuente:** *Elaboración Propia (2021)*

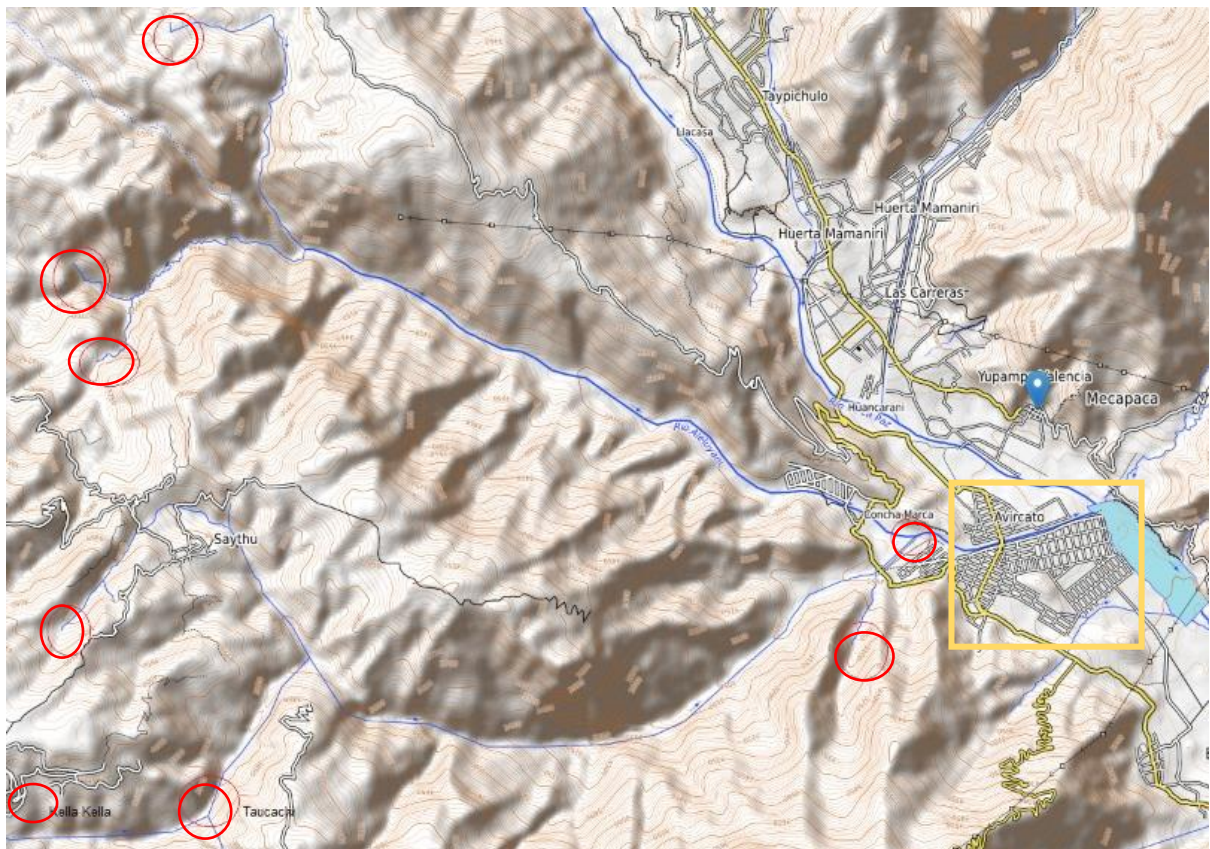
La contaminación por la fuga de plaguicidas se da por la diseminación de estos solutos a través del agua de escorrentía y posterior infiltración en el suelo. La escorrentía y transporte de solutos ocurre desde los sitios de concentración y depósito de plaguicidas,

ocurriendo posteriormente la infiltración en el suelo, pudiendo alcanzar las aguas subterráneas y finalmente, después de ulteriores dispersiones, la contaminación de las aguas superficiales, en lagos y ríos (FAO,2021).

En tal sentido, uno de los factores de contaminación de la comunidad de Avircato - urbanización Villa Linda, es la práctica del riego mediante el uso de aguas contaminadas aguas arriba, ocurriendo esta práctica a través el desvío del río mediante un canal de tierra que va hacia los cultivos, lo que implica el traslado de restos de plaguidas mediante arrastre, causando la infiltración en el suelo y probable absorción por las plantas, propagándose por escorrentía y por último volver al cause principal del río. La afectación se da desde la parte alta hacia la parte baja, es decir desde las nacientes, tal como se puede observar en la siguiente figura.

### Figura 6.

*Nacientes del río Aleluyani en la comunidad de Avircato*



**Fuente:** Elaboración Propia (2021)

La contaminación del agua por plaguicidas se produce al ser arrastrados por el agua de los campos de cultivo hasta los ríos donde se introducen en las cadenas alimenticias provocando la muerte de varias formas de vida necesarias en el balance de algunos ecosistemas. (FAO, 2021).

La cantidad de plaguicida aplicado en el lugar es excesiva, además de una inadecuada disposición de los envases y restos de plaguicida y que al existir poca precipitación en la zona la contaminación por plaguicidas aumenta, afectando el agua del río.

Las efluentes del río Aleluyani provienen de cabecera de cuenca, de las comunidades: Kela Kela, Taucachi, Saythu, hacia la comunidad de Avircato urbanización Villa Linda, las nacientes de cuenca son consideradas aguas puras ya que por observación son cristalinas y que al ser destinadas para riego, estas llegan a contaminarse por el exceso de plaguicidas aplicados en el lugar y arrastrados hacia el río (La Paz) que desemboca, la contaminación por plaguicidas no provienen solo del riego ya que también al llevar los desechos, restos, envases de químicos al río y el lavado del equipo de fumigación e implementos para fumigar son causantes igual forma en la contaminación del agua en ese sector.

### 5.3. Tercera etapa

En la tercera etapa se llevaron a cabo los bioensayos con especímenes de sexta generación. En el primer bioensayo se tomaron datos en diferentes horas por el lapso de 48 horas de monitoreo, promedios de las repeticiones en cada concentración.

**Tabla 10.**

*Promedio de mortalidad en el primer bioensayo*

<b>Total individuos por concentración</b>	<b>Concentración</b>	<b>Promedio</b>
25	0,104	19
25	0,052	21
25	0,026	19
25	0,013	18
25	0,006	17

**Fuente:** Elaboración Propia (2021)



En la tabla 10, se muestra los promedios de mortalidad a diferentes horas, las cuales muestran no estar acorde a las concentraciones, es decir que el toxico actuó de igual forma en las concentraciones 0.104 mg/l y 0.026 mg/l siendo una la concentración más alta y la segunda la concentración media, la mortalidad alta se observó en la concentración 0.052 mg/l, no existiendo una concordancia de datos en los promedio obtenidos, se tomó como dato de referencia reiterando nuevamente el protocolo para obtener un mejor ajuste de datos y poder llegar a una comparación.

En el segundo bioensayo de igual forma se obtuvieron datos promediados de las repeticiones en cada concentración, como refleja la tabla siguiente.

**Tabla 11.**

*Promedio de mortalidad en el segundo bioensayo*

<b>Total, individuos por concentración</b>	<b>Concentración</b>	<b>Promedio</b>
25	0,104	17
25	0,052	13
25	0,026	19
25	0,013	12
25	0,006	12

**Fuente:** *Elaboración Propia (2021)*

Se puede apreciar en la tabla 11 el promedio de las repeticiones por concentración en el segundo bioensayo, mostrando datos dispersos, no acorde a las concentraciones, es decir que la concentración media presento mayor toxicidad a diferencia de las concentraciones altas que fueron menores, por tanto, se reiteró el protocolo para un mejor ajuste de datos, tomando las dos primeras pruebas como preliminares y de calibración.

La tabla siguiente muestra los promedio obtenidos de las repeticiones a diferentes concentraciones en el tercer bioensayo.

**Tabla 12.***Promedio de mortalidad en el tercer bioensayo*

<b>Total individuos por concentración</b>	<b>Concentración</b>	<b>Promedio</b>
25	0,104	21
25	0,052	20
25	0,026	19
25	0,013	18
25	0,006	14

**Fuente:** *Elaboración Propia (2021)*

En la tabla 12 se observa la mortalidad de las pulgas acuáticas en función a la concentración, es decir que, a mayor concentración, existe mayor número de individuos muertos por efecto del plaguicida, la diferencia de mortandad no es alta, sin embargo, es elocuente en relación a los bioensayos anteriores.

En el último bioensayo de igual forma se realizó la estimación del promedio de las repeticiones en las diferentes concentraciones, como se muestra en la tabla siguiente:

**Tabla 13.***Promedio de mortalidad en el cuarto bioensayo*

<b>Total individuos por concentración</b>	<b>Concentración</b>	<b>Promedio</b>
25	0,104	20
25	0,052	15
25	0,026	14
25	0,013	10
25	0,006	9

**Fuente:** *Elaboración Propia (2021)*

Al igual que la tercera prueba, se puede apreciar que hay variación en la mortalidad respecto a la concentración, donde el producto formulado tuvo efecto a concentraciones mayores, existiendo una significancia, demostrando que la CL<sub>50</sub> es más baja que el dato indicado en la hoja de seguridad, lo cual demuestra ser más toxico de lo indicado.

### 5.3.1. Datos obtenidos en Probit

Se procesaron los datos con datos de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de todos los bioensayos realizados, se tomó en cuenta los datos de 48 horas, ya que el estudio aplicado (concentración letal media aguda) tiene un límite de estudio de 48 horas, extrayendo el dato al 0.50 lo cual indica la mortalidad del 50 % de la población.

**Tabla 14.**

*Análisis Probit (48 hrs) en el primer bioensayo*

Probabilidad	Concentración	Límite inferior 95%	Límite superior 95%
0.01	0.000	0.000	0.000
0.05	0.000	0.000	0.000
0.10	0.000	0.000	0.001
0.20	0.000	0.000	0.001
0.30	0.000	0.000	0.002
0.40	0.001	0.000	0.003
0.50	0.001	0.000	0.005
0.60	0.002	0.000	0.007
0.70	0.005	0.000	0.012
0.80	0.013	0.001	0.030
0.90	0.044	0.020	2.172
0.95	0.123	0.044	387.627
0.99	0.848	0.141	8791490.140

**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

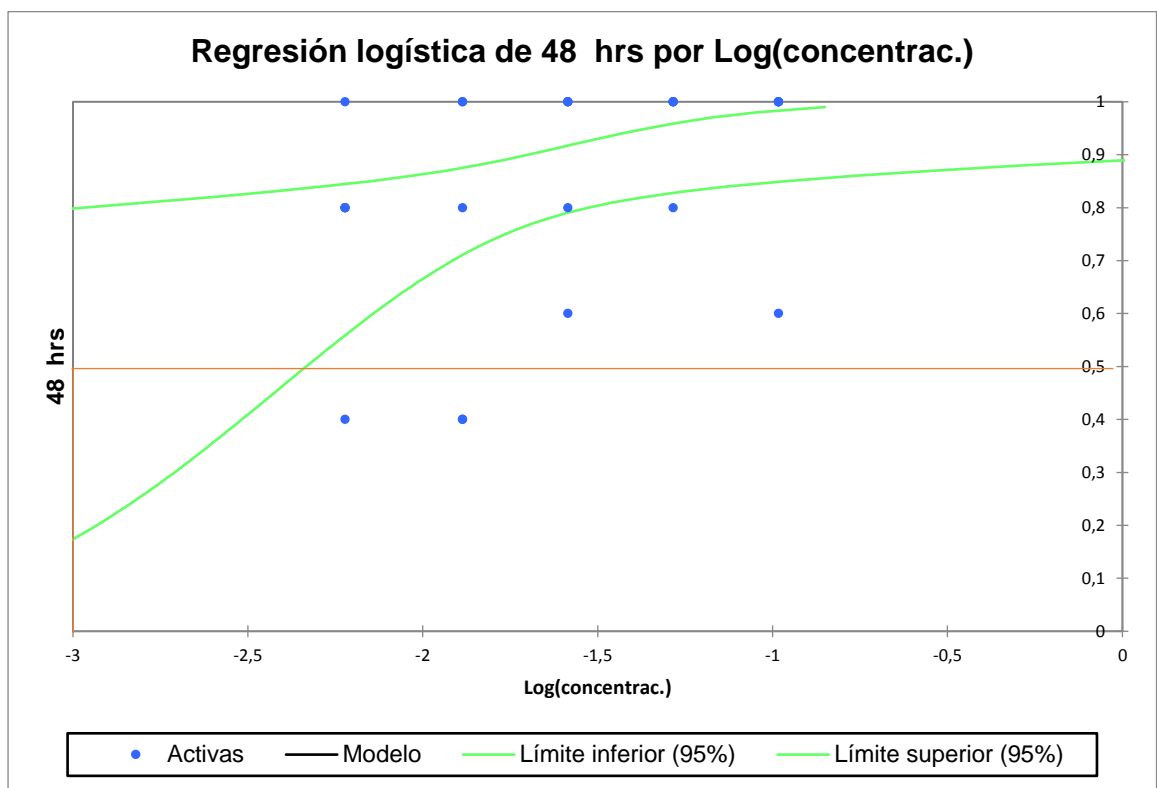
Se puede apreciar en la tabla las probabilidades desde un 0.01 a 0.99 en porcentaje, donde se encuentra el dato de 0.50 siendo la concentración letal media 0.001, obtenida

del promedio de los límites inferior y superior, lo cual indica que las concentraciones aplicadas resultan ser tóxicas para los especímenes siendo la concentración más baja es de 0.006 mg/l, es decir que la  $CL_{50}$  obtenida es mucho más baja en el bioensayo primero.

En la siguiente figura, se muestra la representación gráfica en base a los datos obtenidos en la tabla 14.

**Figura 7.**

*Representación gráfica del análisis Probit en el primer bioensayo*



**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

En la representación gráfica de los datos descritos en la tabla 15, se puede observar los datos bastante dispersos, las concentraciones están en logaritmo, siendo la concentración más baja 0.006mg/l con un equivalente de -3 y el dato de probabilidad de 0.50 que se indica en la tabla no se muestra en el gráfico siendo este dato cero.

Los datos obtenidos del análisis Probit para la concentración letal media en el segundo bioensayo se muestran a continuación:

**Tabla 15.**

*Análisis Probit (48 hrs) en el segundo bioensayo*

Probabilidad	concentración	Límite inferior	Límite superior
		95%	95%
0,01	0,000	—	—
0,05	0,000	—	—
0,10	0,000	—	—
0,20	0,000	—	—
0,30	0,000	—	—
0,40	0,000	—	—
0,50	0,000	—	—
0,60	0,005	—	—
0,70	0,372	—	—
0,80	63,277	—	—
0,90	78508,355	—	—
0,95	28165943,132	—	—
0,99	1746304651356,180	—	—

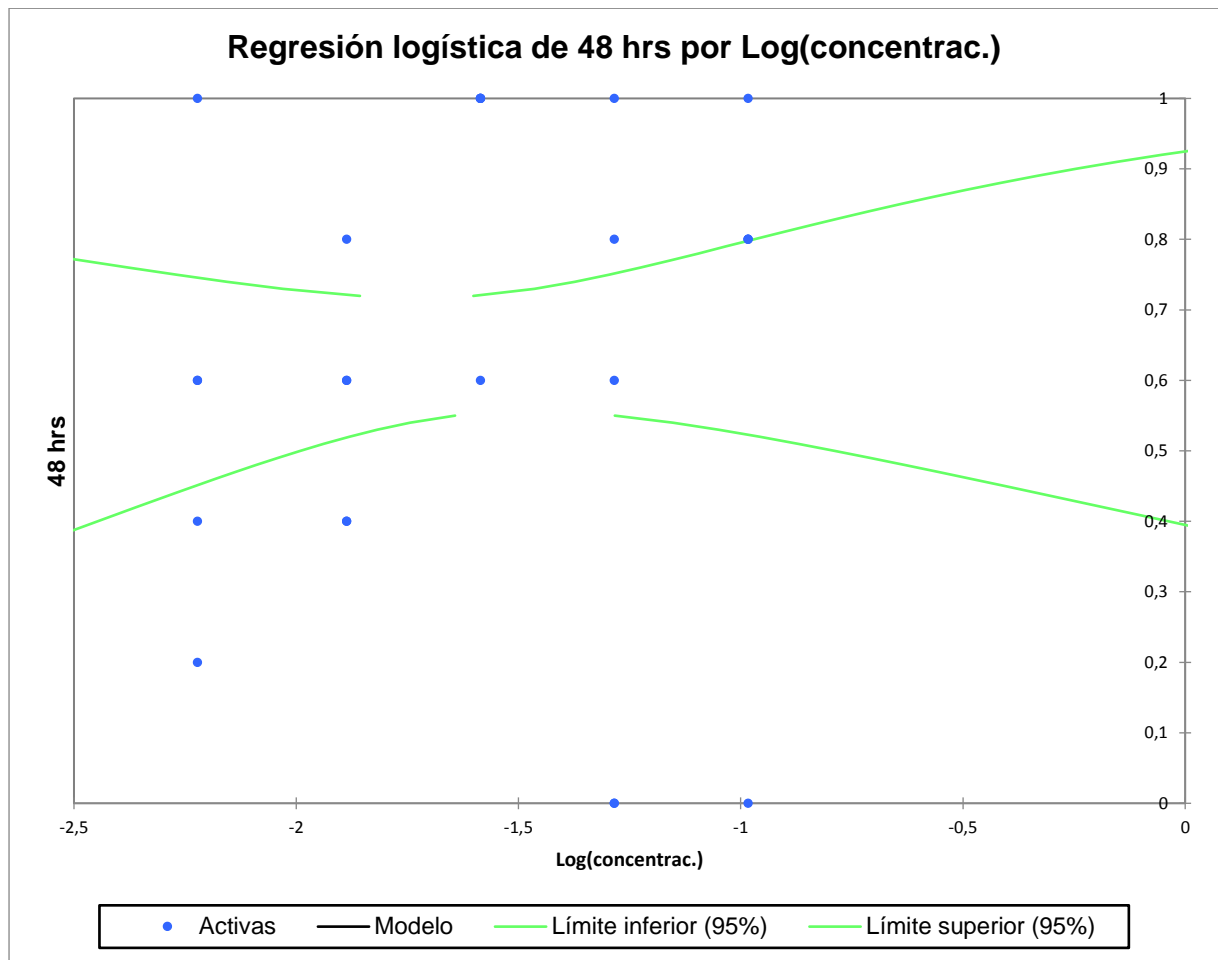
**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

Se puede observar el resultado del análisis Probit el cual no muestra los límites de confianza siendo que los datos fueron erráticos, por lo que no muestra la concentración letal media. Puesto que, algún factor pudo afectar al segundo bioensayo, como la esterilización del material o del ambiente.

En la siguiente figura se puede apreciar la representación gráfica del resultado del análisis Probit en el segundo bioensayo.

**Figura 8.**

*Representación gráfica del análisis Probit en el segundo bioensayo*



**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

La gráfica muestra los datos dispersos, puesto que los límites no existen por tanto no se muestra las concentraciones en función a la probabilidad, puesto que no se obtuvo el dato requerido (CL<sub>50</sub>).

En la siguiente tabla se muestra los resultados del análisis Probit aplicado para el tercer bioensayo.

**Tabla 16.**

*Análisis Probit (48 hrs) en el tercer bioensayo*

<b>Probabilidad</b>	<b>concentración</b>	<b>Límite inferior 95%</b>	<b>Límite superior 95%</b>
0,01	0,000	0,000	0,001
0,05	0,000	0,000	0,001
0,10	0,001	0,000	0,002
0,20	0,001	0,000	0,003
0,30	0,002	0,000	0,004
0,40	0,003	0,000	0,005
0,50	0,010	0,009	0,011
0,60	0,005	0,002	0,009
0,70	0,008	0,003	0,012
0,80	0,012	0,007	0,019
0,90	0,022	0,015	0,050
0,95	0,037	0,022	0,129
0,99	0,094	0,045	0,868

**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

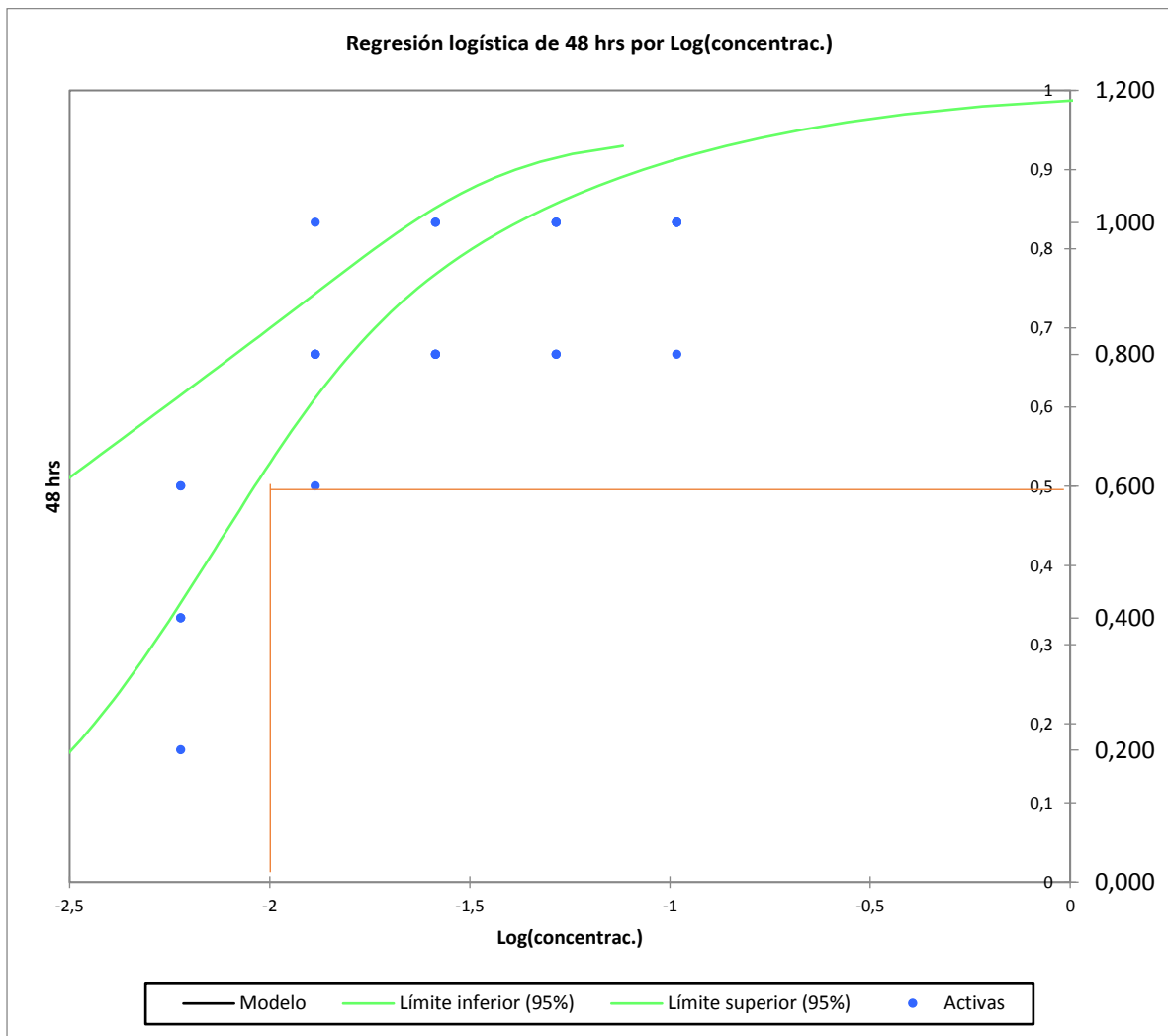
Se puede observar el dato requerido resaltado, donde el promedio entre el límite inferior y superior muestra la concentración letal media el cual indica 0.010 mg/l lo que significa que a esa concentración existe mortalidad del 50% de la población a 48 horas.

En el bioensayo tercero la manipulación y protocolo dentro de laboratorio es correcto ya que reflejado en los resultados obtenidos se puede observar la  $CL_{50}$ .

En la siguiente figura se puede observar en la representación gráfica de los datos en base a la tabla 16, donde el logaritmo de la concentración obtenida, es de -2.

**Figura 9.**

*Representación gráfica del análisis Probit en el tercer bioensayo*



**Fuente:** Programa XLSTAT 2021



En el gráfico se muestra la tendencia de los límites, siendo el punto de interés a 0.5 lo cual indica la concentración letal media, es de 0.010mg/l siendo el valor log de la concentración (-2) equivalente a la concentración letal media.

En la siguiente tabla se puede apreciar los datos obtenidos mediante el análisis Probit en el último bioensayo realizado.

**Tabla 17.**

*Análisis Probit (48 hrs) en el cuarto bioensayo*

<b>Probabilidad</b>	<b>concentración</b>	<b>Límite inferior 95%</b>	<b>Límite superior 95%</b>
0,01	0,000	0,000	0,001
0,05	0,000	0,000	0,001
0,10	0,001	0,000	0,002
0,20	0,002	0,000	0,005
0,30	0,004	0,000	0,008
0,40	0,007	0,001	0,012
0,50	0,012	0,004	0,020
0,60	0,021	0,011	0,038
0,70	0,039	0,023	0,098
0,80	0,080	0,043	0,394
0,90	0,216	0,089	3,138
0,95	0,492	0,157	18,052
0,99	2,308	0,441	494,239

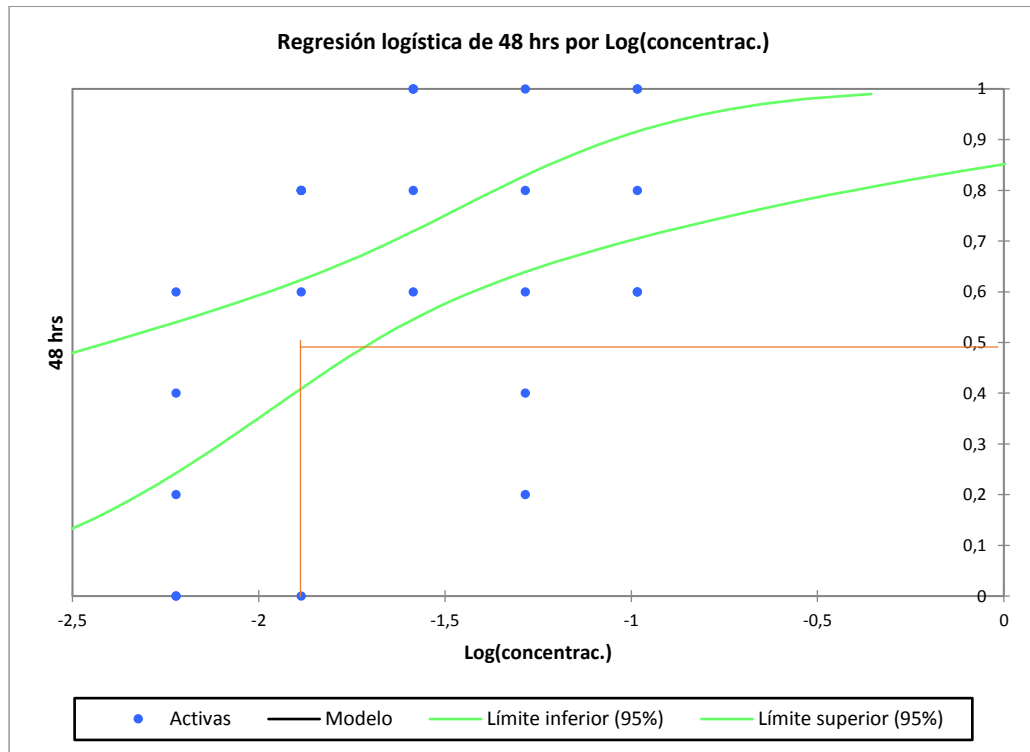
**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

En la tabla 17 la concentración letal media a 48 horas es 0.012mg/l, siendo el promedio de los límites inferior y superior, el dato obtenido muestra que el protocolo aplicado es correcto, puesto que los datos muestran relación en base a la concentración.

En la siguiente figura, se observa la representación gráfica de los datos obtenidos de Probit en el cuarto bioensayo, el log de la concentración obtenida es -1.92, como se muestra en la siguiente figura

**Figura 10.**

Representación gráfica del análisis Probit en el cuarto bioensayo



**Fuente:** Programa XLSTAT 2021

La gráfica plasma los datos obtenidos en la tabla, donde se observa los límites superior e inferior en líneas paralelas, indicando la concentración letal media, como resultado del promedio obtenido. Este bioensayo muestra que el protocolo y los factores dentro de laboratorio fueron positivos ya que los resultados muestran una significancia se encuentran según los datos de la concentración, es decir que a mayor concentración mayor mortalidad, además de que existe mayor toxicidad en la concentración media.

Tomando en cuenta que los datos del tercer y cuarto bioensayos se asemejan, lo cual significa que la CL<sub>50</sub> del producto formulado (STERMIN 600 SL) se encuentra dentro ese

rango de valores obtenidos, se obtuvo el promedio de ambos resultados como se describe en la siguiente tabla.

**Tabla 18.**

*CL<sub>50</sub> a 48 horas del tercer y cuarto bioensayo*

<b>Tercera prueba</b>	CL <sub>50</sub> (48hrs.) =	0.010 mg/l
<b>Cuarta Prueba</b>	CL <sub>50</sub> (48hrs.) =	0.012 mg/l

**Fuente:** *Elaboración propia (2021)*

Se determinó el valor de la CL<sub>50</sub> promediando los valores del tercer y cuarto bioensayo

donde, tenemos que: 
$$X = \frac{0.010+0.012}{2} = 0.011\text{mg/l}$$

Dado el promedio obtenido, se puede decir que la concentración letal media en *Daphnia magna* del producto formulado (STERMIN 600 SL) es de: CL<sub>50</sub>= 0.011 mg/l

Según el manual técnico Andino, el resultado obtenido está clasificado como extremadamente toxico al ser menor a 0.1

**Tabla 19.**

*Categoría toxicológica para peces e invertebrados*

<b>CL<sub>50</sub></b>	<b>Categoría</b>
< 0.1	Extremadamente Toxico
– 1.0	Altamente Toxico
1.0 – 10	Moderadamente Toxico
10 – 100	Ligeramente Toxico
> 100	Prácticamente no Toxico

**Fuente:** *Manual de Procedimientos de Evaluación Ecotoxicologica de Plaguicidas Químicos De Uso Agrícola (2020).*

El valor de CL<sub>50</sub> = 0.011mg/l difiere del valor de referencia en base a la ficha técnica y fuentes oficiales, donde indica el valor de CL<sub>50</sub> = 0.026 mg/l, puesto que la toxicidad en

organismos acuáticos corresponde al ingrediente activo (Metamidofos), sin embargo el presente estudio muestra la CL<sub>50</sub> del producto formulado, donde se incluye a los aditivos, por tanto este producto resulta ser mucho más tóxico al obtener un valor más bajo en comparación al valor del ingrediente activo.

### 5.3.2. Evaluación de riesgo ambiental acuático

Para la evaluación de riesgo ambiental, se multiplicó la dosis recomendada por el número de aplicaciones y la concentración del ingrediente activo que en este caso es Metamidofos:

$$2.00 \text{ l/ha} * 2 \text{ aplicaciones} = 4 \frac{\text{l}}{\text{ha}} * 600 \frac{\text{g}}{\text{l}} = 2400 \frac{\text{g}}{\text{ha}} \rightarrow 2.4 \frac{\text{kg}}{\text{ha}}$$

Donde se entiende que la dosis máxima es:  $2.4 \frac{\text{kg}}{\text{ha}}$

Ya con la dosis máxima se calcula la EEC, aplicando la fórmula:

$$EEC \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{2.4 \left( \frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) \times 10 \text{ (ha)} \times 0.1 \times 1.000.000 \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right)}{1 \text{ (ha)} \times 10.000 \left( \frac{\text{m}^2}{\text{ha}} \right) \times 2 \text{ (m)} \times 1000 \left( \frac{\text{L}}{\text{m}^3} \right)}$$

Donde la concentración de exposición estimada EEC es de: 0.12 mg/l

Por último, se calcula el cociente de riesgo RQ

$$RQ = \text{Exposición (EEC)} / \text{Toxicidad} \quad RQ = \frac{0.12 \text{ mg/l}}{0.011 \text{ mg/l}} = 10.9$$

El valor obtenido nos sugiere pasar a un segundo nivel donde se divide la EEC / NOEC (valor obtenido de fuentes oficiales, FAO)

$$NOEC = 0.026 \text{ mg/l} \quad RQ_s = \frac{0.12 \text{ mg/l}}{0.026 \text{ mg/l}} = 4.61$$

El valor obtenido sigue siendo mayor a 1 es por eso que se debe pasar a un tercer nivel, donde el manual técnico indica pasar a un nivel III, el estimado con el que se debe contar debe establecer objetivos para definir una prueba simulada en campo y se debe desarrollar un protocolo.

### 5.3.3. Análisis de varianza

Se aplicó el programa Infostat para realizar el análisis de varianza, en base a los datos del cuarto bioensayo a 48 horas, siendo lo requerido para el estudio, para realizar una homogenización de datos se transformó las variables, usando las diferentes variables de tipificación y tomando el resultado más bajo de la desviación estándar, siendo la fórmula aplicada  $\sqrt{x + 0.5}$ , se obtuvo como resultado los valores de la tabla siguiente.

**Tabla 20.**

*Valores transformados*

concentrac.	mortalidad (48hrs)	valores transformados
0,104	5	2,35
0,104	5	2,35
0,104	5	2,35
0,104	4	2,12
0,104	4	2,12
0,052	4	2,12
0,052	3	1,87
0,052	5	2,35
0,052	3	1,87
0,052	2	1,58
0,026	4	2,12
0,026	3	1,87
0,026	3	1,87
0,026	4	2,12
0,026	2	1,58
0,013	2	1,58
0,013	3	1,87
0,013	4	2,12
0,013	0	0,71
0,013	4	2,12
0,006	3	1,87
0,006	3	1,87
0,006	2	1,58
0,006	1	1,22
0,006	0	0,71

**Fuente:** *Elaboración propia (2021)*

En la tabla 20 se puede observar los datos con la tipificación aplicada, posteriormente se procesó el Análisis de varianza en el programa Infostat, obteniendo los siguientes resultados:

**Tabla 21.**

*Análisis de varianza*

<b>F. V</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P- valor</b>	<b>significancia</b>
Concentraciones	1.57	4	0.39	4.02	0.0149	*
Error	1.95	20	0.10			
Total	3.52	24				

**Fuente:** *Infostat*

La tabla 21 muestra la fuente de variabilidad de los tratamientos, se observó diferencias significativas, los resultados indican que los tratamientos aplicados son diferentes entre ellos, siendo el efecto de las diferentes concentraciones varia respecto a la mortalidad.

Se aplicó la prueba de medias de Fisher, para ratificar los resultados ya que proporciona datos más específicos respecto de a la mortalidad de los especímenes, como se observa en la siguiente tabla.

**Tabla 22.**

*Prueba de medias de Fisher*

<b>Concentración</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>			
0.104	4.60	5	0.52			C
0.052	3.40	5	0.52		B	C
0.026	3.20	5	0.52	A	B	C
0.013	2.60	5	0.52	A	B	
0.006	1.80	5	0.52	A		

**Fuente:** *Infostat*

La tabla 22 muestra que a mayor concentración va existir mayor mortalidad, por otro lado, las concentraciones 0.052 mgL<sup>-1</sup> , 0.026 mgL<sup>-1</sup> y 0.013 mgL<sup>-1</sup> son estadísticamente

iguales, se puede apreciar las medias de los organismos, es decir que va existir mortalidad entre 3 a 4 especímenes a estas concentraciones, en caso de las concentraciones extremas como ser la concentración alta de  $0.104 \text{ mgL}^{-1}$  se puede observar que un total de 4-5 especímenes muertos que representa más del 50% y en el caso de la concentración mas baja de  $0.006 \text{ mgL}^{-1}$  va existir la mortalidad de 1-2 especímenes muertos, representando menos del 50% de mortalidad mostrando diferencia en relación a las demás concentraciones.

Por lo que la  $CL_{50}$  se encuentra entre las concentraciones 0.013 - 0.026, es decir, que la concentración letal se encuentra en ese rango, a diferencia de la función Probit que proporciona un dato exacto en comparación a la prueba de medias (Fisher) obteniendo un rango aproximado.

## **6. CONCLUSIONES**

La crianza de pulgas acuáticas (*Daphnia magna*) es factible en condiciones controladas.

El uso organismos de quinta o sexta generación para bioensayos asegura que los individuos no tengan modificaciones genéticas, por factores del medio, los cuales pueden ocurrir en caso de un ambiente natural, puesto que al encontrarse en condiciones controladas el factor que puede causar daño al organismo es el toxico que se aplica para la investigación. Por otro lado, los organismos maduros presentan mayor estabilidad y se los percibe a simple vista, a diferencia de los neonatos o juveniles.

El mal manejo de material y organismos dentro el laboratorio resulta ser perjudicial ya que a medida que pasan las generaciones, tienden a ser más sensibles causándoles la muerte a los organismos.

El testigo absoluto es importante para observar el comportamiento del toxico en los organismos, puesto que se observó que los organismos se mantuvieron estables las 48 horas.

El uso de agua destilada para las pruebas nos ayuda a descartar posibles tóxicos en el agua siendo el único factor de mortalidad en los especímenes el toxico en estudio, dando mayor seguridad al bioensayo siendo el tipo de agua neutra.

El producto (STERMIN 600 SL) tiene una gran aceptación por los agricultores en la comunidad de Avircato – urbanización Villa Linda, por ser efectivo para combatir plagas en varios cultivos sin limitarse a los cultivos indicados en la etiqueta, sin existir un buen manejo del producto, aplicando de manera preventiva y sin tomar en cuenta que la aplicación debe realizarse en presencia de plagas, esto a falta de información.

Se obtuvo una  $CL_{50}$  de  $0.011 \text{ mgL}^{-1}$  del producto formulado STERMIN 600 SL, este resultado difiere del dato que se muestra en la etiqueta y hoja de seguridad del producto formulado, que indica un  $CL_{50}$  de  $0.026 \text{ mg/l}$ , siendo el dato encontrado en fuentes oficiales, correspondiente al ingrediente activo (Metamidofos), por tanto, el producto formulado resulta ser más tóxico que el ingrediente activo.

De los cuatro bioensayos realizados, los dos primeros no mostraron datos significativos, por lo que se tomó como pruebas preliminares, por tanto, se reiteró el protocolo en los siguientes bioensayos para un mejor ajuste de datos, los datos obtenidos en el tercer y cuarto bioensayo mostraron semejanza, se obtuvo una  $CL_{50}$  de  $0.011 \text{ mg/l}$  siendo el promedio de ambos bioensayos.

Las concentraciones aplicadas en el estudio resultaron ser tóxicas ya que en todas las concentraciones se observó mortalidad de los organismos y tóxico para cuerpos de agua.

Las nacientes de cuencas son aguas consideradas puras, siendo efluentes de agua usadas para el riego en ese sector, resultando el contaminante principal los residuos de plaguicidas por arrastre y acumulación, afectando al cause principal y zonas bajas, además de envases desechados al río principal.

## **7. RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar bioensayos con organismos acuáticos, para corroborar datos, por otro lado, implementar estudios en nuestro país y contar con ellos, siendo necesario dar facilidades tanto a los importadores de plaguicidas, como a los productores de alimentos. Además, aplicar bioensayos en especies mencionadas en el Manual Técnico Andino el cual sería un aporte a la investigación en ya que los bioensayos no son aplicados dentro del país.



Se recomienda realizar un buen manejo dentro del laboratorio para la crianza de pulgas acuáticas, siendo estos organismos sensibles al transcurrir las generaciones, además de proporcionarles buenas condiciones ambientales con alimento adecuado y controles constantes para obtener una producción de *Daphnia magna* a corto plazo.

Se recomienda realizar estudios de residualidad de los productos que son cosechados en especial las hortalizas que deben contener tóxicos de plaguicidas, siendo altamente tóxico en cuerpos de agua, se puede decir que las aguas están contaminadas, afectando a toda la zona y a las aguas del río Aleluyani de donde se extrae el agua para riego, es importante dar a conocer la cantidad de tóxico consumida y si se respeta el periodo de carencia posterior a la cosecha por parte del productor.

Se recomienda intercalar el uso de plaguicidas, durante el ciclo del cultivo tanto para prevención como para infestación, aplicando plaguicidas de clase II, clase III, clase IV, esto para no crear resistencia en la plaga y no dañar al cultivo, en caso de aplicar plaguicidas químicos, por otro lado, optar por un manejo integrado de plagas como prevención y acudir a los químicos como último recurso y/o en caso de infestación

Se recomienda realizar evaluaciones de riesgo - beneficio de los plaguicidas más usados actualmente para poder recomendar el uso y desuso a favor de sustitutos adecuados, ya que es importante hacer cumplir las leyes establecidas referentes al uso de plaguicidas prohibidos y con restricción, además de la dosis adecuada y los niveles permisibles de plaguicidas para los cultivos.

El riego del lugar arrastra los residuos de plaguicidas que van de las partes altas a la parte baja donde implican a otras localidades como ser Palomar y Huayhuasi que son localidades de igual manera productoras y donde la residualidad de tóxicos debe ser alta, es por eso que es necesario aportar con más estudios de plaguicidas en sectores de producción en la ciudad de La Paz.

Se recomienda aplicar riego presurizado y/o por goteo para disminuir el impacto de contaminación en las áreas de cultivo,

La evaluación de riesgo ambiental acuático sugiere realizar pruebas simuladas y desarrollar un protocolo, para ser parte del Plan de Manejo Ambiental del Plaguicida ya que resulta ser muy tóxico para cuerpos de agua.

Por último, se recomienda realizar un análisis de las aguas provenientes de nacientes de cuencas, para determinar la contaminación del agua.

### **7.1. Recomendaciones para los productores:**

Realizar un plan de manejo integrado de plagas como opciones alternas al uso de plaguicidas tóxicos, solo en caso de infesta, implementar plaguicidas químicos.

Usar plaguicidas de composición fuertes, es decir etiqueta roja en caso de infesta o difíciles de tratar como opción para combatir plagas, tomando en cuenta que el producto sea legal en el país y que este autorizado en todo el territorio boliviano.

Exigir asistencia de las autoridades pertinentes las cuales tienen la obligación de regular el uso de plaguicidas, por ejemplo, SENASAG que es la institución encargada de apoyar y facilitar información a los productores, además del Ministerio de Medio Ambiente y Agua que tiene conocimiento sobre el riesgo ambiental que existe en los productos que se importan dentro del país.

### **7.2. Recomendaciones para las instituciones:**

Realizar mayor control sobre la venta de los plaguicidas y brindar capacitación al personal de los puntos de venta de agroquímicos para que se conozca los riesgos ambientales que provoca el uso de químicos no legalizados en nuestro país.

Proporcionar alternativas sobre productos tóxicos en caso de infestación, es decir que la plaga ya sea difícil de controlar siempre y cuando el producto sea legal dentro el país.

Apoyar al productor respecto al uso de agroquímicos ya que el productor necesita soluciones inmediatas ya que al proporcionarle orientación le damos la herramienta para que tome el camino por vía legal y adquiera productos certificados y autorizados.

Capacitaciones constantes tanto a los puntos de venta de agroquímicos, como a los agricultores en zonas productoras de cada departamento, sobre el manejo y uso de plaguicidas y la orientación sobre los efectos negativos que causan al medio ambiente, esto a falta de información, brindarles alternativas y recomendaciones adecuadas, de acuerdo al tipo de cultivo en cada zona, esto en concordancia con SENASAG y MMAyA.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Bocquené, G., Roig, A., Fournier, D. (1997). Colinesterasas de la ostra común (*Crassostrea gigas*). Evidencia de la presencia de una acetilcolinesterasa soluble insensible a los inhibidores de organofosforados y carbamatos. Pág. 261-266.
- Bascopé, R., Bickel, U., Jacobi, J., (2019). Plaguicidas químicos usados en el cultivo de soya en el departamento de Santa Cruz, Bolivia: riesgo para la salud humana y toxicidad ambiental, SciELO, vol. 9, N° 3. UMSS, Cochabamba – Bolivia.
- Calow, P. (1993). Principios generales y descripción general. En: Manual de Ecotoxicología. Vol. I. P. Calow ed., Blackwell Scientific, Oxford. Pág. 478.
- Curtis, D., Klaasssen, Jhon, B., Watkins III. (2001). Manual de toxicología. México.
- Colección FAO: eliminación de plaguicidas, manual sobre el almacenamiento y el control de existencias de plaguicidas. Volumen 3. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Pág. 1-3
- Cisneros, VF. (2012). Control químico de las plagas agrícolas. Sociedad Entomológica del Perú. Pág. 288.
- Dodson S. & T. Hanazato. (1995). Comentario sobre los efectos de los productos químicos orgánicos naturales y antropogénicos en el desarrollo, el comportamiento de natación y la reproducción de *Daphnia*, un miembro clave de los ecosistemas acuáticos. Reinar. Salud. (Suplemento 4). Pág. 7-11.

- Day, K., Ongley, E., Scroggins, R. & Eisenhauer, R. (1988). "Biología en el nuevo marco regulatorio para la protección acuática", Actas para el taller de Alliston, Instituto Nacional de Investigación del Agua (Burlington, Ontario) y Medio ambiente Canadá – Ottawa.
- Escobar Malaver, P. (2009). Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de muestras ambientales. Rev. Épsilon N° 12. Pág. 115-133.
- Evaluación de impacto ambiental, EPA de EE. UU. (1998). Principios de revisión de la evaluación de impacto ambiental.
- Escalante Espinosa, E. (2000) Tesis de maestría: Estudio de Ecotoxicidad de un suelo contaminado con Hidrocarburos. Universidad Autónoma Metropolitana (IZTAPALAPA) México, D.F.
- FAO, (2021). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Objetivos de desarrollo sostenible.
- Ferrando M., E., Sancho & André-Moliner. (1999). Estudios de toxicidad del tetradifón para *Daphnia magna*. Ecotoxicología y restauración Ambiental. Pag. 14
- Fernández, N., Pujol, E., Maher, E. (2012). Los plaguicidas aquí y ahora. Ministerio de Educación. Buenos Aires - Argentina.
- Ficha técnica del Metamidofos. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas de América Latina (RAP-AL). [Internet]. Publicado en:  
  
[www.rap-al.org/articulos\\_files/metamidofos\\_Enlace\\_82.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/metamidofos_Enlace_82.pdf).
- Fundación Plagbol. (2017). Huici, Omar: Situación actual del uso de plaguicidas en la agricultura boliviana. La Paz/ Santa Cruz.
- Gardiner, M. (1978). Biología de los invertebrados. Ed. Omega, S.A., Barcelona.

- Horning, W. & Weber, C. (1985). Métodos a corto plazo para estimar la toxicidad crónica de efluentes y aguas receptoras para organismos de agua dulce. EPA / 600 / 4-85 / 014. Laboratorio de monitoreo y apoyo ambiental, Cincinnati. Pág. 162.
- Henao, S. & Corey, G. (1991). Plaguicidas inhibidores de la colinesterasa. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. ECO/OPS/OMS, serie vigilancia. Metepec – México.
- Larraín, A. (1995). Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: importancia de los bioensayos de toxicidad. Cienc. Tec. Mar, CONA. Pág. 39-47.
- Lehmann, P.A. & Simonis, A.M. Introducción a la toxicología general. Editorial Diana S.A. México. Pág. 200.
- Lochhead, J.H. (1961). Locomoción. En: La fisiología de los crustáceos. Órganos sensoriales, integración y comportamiento. T.H. Waterman. Vol. II. ed. Academic Press Inc. (Londres) Ltd. Pág. 681.
- MMAyA, (2017). Manual de Procedimientos de Evaluación Ecotoxicológica de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola. Dirección General de Medio Ambiente y Cambios Climáticos - Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal. La Paz – Bolivia.
- MMAyA, (2020). Manual de Procedimientos de Evaluación Ecotoxicológica de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola. Dirección General de Medio Ambiente y Cambios Climáticos - Viceministerio de Medio Ambiente, Biodiversidad, Cambios Climáticos y de Gestión y Desarrollo Forestal. La Paz – Bolivia.
- Martínez, S., Vela, A., Botero, A., Arandía, F., Mollinedo, P. (2010). Nuevo micro ensayo de ecotoxicidad de extractos acuosos de plantas medicinales sobre *Daphnia magna* sp. Rev. Boliviana de química. Volumen 27. N°1.

- Mohammad et al., (2005). los indicadores biológicos en la evaluación de la evaluación por agroquímicos en ecosistemas acuáticos y asociados. CULCyT - Artículo. Universidad Autónoma Nuevo León.
- Mc. Kee, D. & Ebert, D. (1996). "Los efectos interactivos de la temperatura, el nivel de alimentos y el fenotipo materno sobre el tamaño de la descendencia en *Daphnia magna*". *ecología* 107. Pág. 189-196.
- Maldonado, A., Martínez, L. (2007). Impacto de las fumigaciones aéreas en las bananeras de Las Ramas, Salitre, Guayas. Red Acción Ecológica. [Revista en internet]. Disponible en: <http://www.rap-al.org/db-files/Plagui-AL-infoPA-Ecuador>
- Nuñez, M., Hurtado, J. (2005) Bioensayos de toxicidad aguda utilizando *Daphnia magna* Strauss (cladócera, *Daphniidea*) desarrollada en medio de cultivo modificado. *Rev. Perú. Biol.* 165-170 p.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Caracterización de peligros en los alimentos y agua. Informe de un grupo científico de la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas. Suiza, Ginebra. Serie de informes técnicos. <http://www.who.int/foodsafety/publication/micro/en/spanish.pdf>.
- Peters, R.H. (1987). "Metabolismo en *Daphnia*". En: *Daphnia*. R.H. Peters y R. De Bernardi, eds. Memorias del Instituto Italiano de Hidrobiología. Vol. 45. Pág. 193
- PLAGBOL (2017) Situación actual del uso de plaguicidas en la agricultura boliviana. La Paz/ Santa Cruz - Bolivia.
- Romero D., Martínez E., Hernández G. A., García F., (2006). Valoración de las alteraciones provocadas por diferentes agentes tóxicos sobre *Daphnia magna* a través de un ensayo "en línea". *Rev. Tóxico.* Pág. 113-117.
- Roldan, E., (2016). Introducción a la toxicología. UNAM, FES – Zaragoza Pág. 200.

- Ruppert, E.E. & Barnes, R.D. (1996). Crustáceos. En: Zoología de los invertebrados. 6ª edición. Mc Graw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V., México. Pág. 1114.
- Sutter, G.W. (1993). Evaluación de riesgos ecológicos, Lewis Publishers, Boca Raton.
- Sanchez, M. (2006). Alteraciones fisiológicas como consecuencia de la exposición a plaguicidas en sucesivas generaciones de *Daphnia Magna*. BIOLOGIA FUNCIONAL Y ANTROPOLOGIA FÍSICA. Universitat de Valencia – España.
- Schep, L., Slaughter R., Temple W., Beasley M., (2009), Intoxicación por Dietilenglicol, toxicología clínica. Pág. 525-535.
- Sobral, O. et al., (2001). Desarrollo in vitro de huevos partenogénéticos: una prueba rápida de ecotoxicidad con *Daphnia magna*. Ecotóxico DL<sub>50</sub>. Pág. 174-179.
- Thorp, J.H. & Corvich, A.P. (1991). Cladocera y otros Branchiopodos. Ecología y clasificación del agua dulce norteamericana invertebrados. Academic Press, Inc. EE. UU. Pág. 911.
- Vettorazzi, G. (1992) Toxicología Prospectiva: Base lógica, manera de abordar y aplicaciones prácticas. Programa Internacional de Seguridad de las sustancias químicas. Organización Mundial de la Salud. Ginebra - Suiza.
- Villanueva, J.J. (1994). Toxicología y manejo de insecticidas. México. Colegio de postgraduados. Pág. 263.
- Wood, A. (2004). Compendio de los nombres comunes de los pesticidas. Universidad de Minnesota. Pág. 310.
- Waterman, T. (1961). “Fisiología comparada”. En: La fisiología de Crustácea. Vol. 1. Academic Press, Nueva York. Pág. 681.
- Zaffagnini, F. (1987). Reproducción en *Daphnia*. En: *Daphnia*. R.H. Peters y R. De Bernardi, eds. Memorie dell' Istituto Italiano di Idrobiologia. Vol. 45. Pág. 245-284

## 9. ANEXOS

### Anexo 1. Reproducción de *Daphnia magna* en condiciones controladas



**Fotografía 1.** Red para colectar zooplancton



**Fotografía 2.** Recolección de muestras



**Fotografía 3.** Muestras llevadas a laboratorio



**Fotografía 4.** Acuarios con *Daphnias*

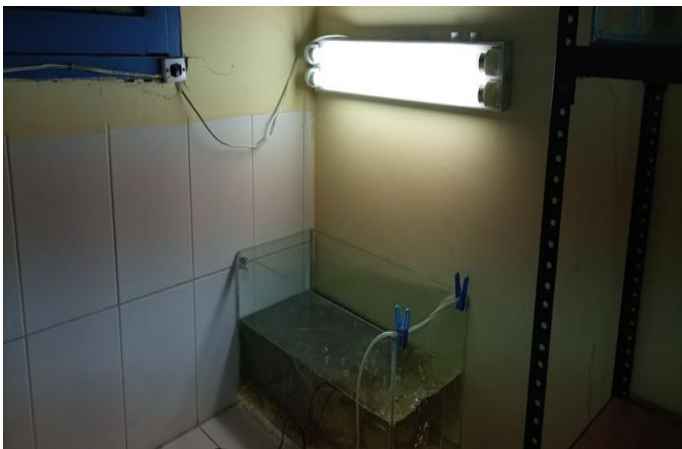




**Fotografía 5.** Separación de generaciones



**Fotografía 6.** Generaciones de Daphnias



**Fotografía 7.** Cultivo de Elodea



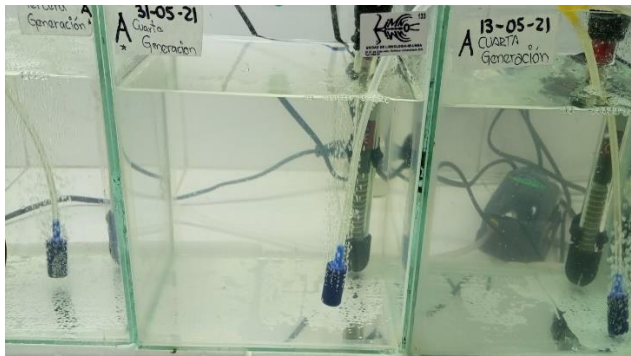
**Fotografía 8.** Elodea en mortero



**Fotografía 9.** Molido de elodea para alimento



**Fotografía 10.** Daphnias alimentadas



**Fotografía 11.** Acuarios con difusores de oxígeno y termostatos



**Fotografía 12.** Acuarios con quinta y sexta generación



**Fotografía 13.** Observación de Daphnia en estereomicroscopio



**Fotografía 13.** Observación de reproducción partenogenética



## Anexo 2. Proceso de obtención de datos del plaguicida



**Fotografía 14.** Visita al municipio de Mecapaca, comunidad Avircato – urbanización Villa Linda



**Fotografía 15.** Encuesta a los productores



**Fotografía 16.** Productos aplicados en la comunidad



**Fotografía 17.** Producto adquirido para la parte experimental

### Anexo 3. Medición del caudal



**Fotografía 18.** Canales de riego



**Fotografía 19.** Flotador recorriendo el caudal



**Fotografía 20.** Toma de datos de la profundidad del canal



**Fotografía 21.** Ancho del canal



**Fotografía 22.** Canal de riego



**Fotografía 23.** Cultivos del lugar



Anexo 4. Encuesta realizada a los productores

**ENCUESTA IN SITU**  
**MUNICIPIO: MECAPACA**      **LOCALIDAD: AVIRCATO**  
Nhair Penélope Valle Pérez

**CIUDAD DE LA PAZ**

**NOMBRE:** Juan Alíng Quipe

10. AL COMPRAR UN PLAGUICIDA QUE ES LO PRIMERO EN LO QUE SE FIA:  
 a) que sea de rápida acción    b) que le ayude a combatir la plaga  
 c) compra por que le recomendaron

11. ¿TIENE PREFERENCIA POR UNA MARCA DE PLAGUICIDA EN ESPECIFICO?  
 Stornin

12. ES EFECTIVO EL PLAGUICIDA DE SU PREFERENCIA  
 SI      NO

13. ¿QUE HACE CON LOS ENVASES Y RESTOS DE PLAGUICIDA SOBANTES?  
 Al río, basura

14. CUAL ES EL PLAGUIDA MAS USADO EN ESTE LUGAR, SEGÚN SU EXPERIENCIA  
 Sinclear todo los productos

15. ¿LE RECOMENDARIA A LOS DEMAS PRODUCTORES?  
 Si

16. USTED CREE QUE LOS PLAGUICIDAS, SON LA VERDADERA SOLUCION A LAS PLAGAS  
 SI      NO

17. PODRIA CAMBIAR PLAGUICIDAS POR PRODUCTONATURALES?  
 Si si no mejor

1. ¿QUE PRODUCE USTED?  
 Choda, manznilk, acalga, apio, haba, Cabañe

2. ¿CONOCE ALGUN INSECTO O ENFERMEDAD EN SU CULTIVO?  
 SI      NO

3. ¿PUEDE DESCRIBIR COMO ES EL BICHO O LA ENFERMEDAD?  
 pulgillo, ticane, polvillo, coloso (sicha)

4. ¿USA ALGUN PLAGUICIDA PARA LUCHAR CONTRA ESOS PROBLEMAS?  
 SI      NO

5. QUE PRODUCTO EMPLEA, (¿¿LO PUEDO VER??) CUANTAS VECES LO USA  
 Gante, Karate, Stornin

6. QUE TIPO DE PLAGUICIDA USA, PARA SU PRODUCCION  
 herbicida      fungicida  
 insecticida

7. ¿POR QUE LO USA?  
 prevención      b) cuando ve la plaga

8. ¿EN QUE MOMENTO LO APLICA?  
 a) preemergencia    b) postemergencia    c) durante el crecimiento  
 d) lo que dice en las instrucciones

9. CUANTAS VECES APLICA, DURANTE EL PERIODO DE PRODUCCION  
 3 veces o 4 veces



## Anexo 6. Hoja de seguridad del producto STERMIN 600 SL



### HOJA DE SEGURIDAD DEL PRODUCTO FORMULADO STERMIN® 600 SL

#### 1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO QUÍMICO Y LA COMPAÑÍA

Nombre	:	STERMIN® 600 SL
Tipo de producto	:	Insecticida
Titular del Registro	:	Tecnología Química y Comercio S.A Calle René Descartes 311 Urb. Santa Raquel 2da Etapa. Ate. Lima-Perú. Teléfono: 612-6565 Fax: 348-1020 Correo: cliente@tqc.com.pe
Formulador	:	Tecnología Química y Comercio S.A Perú
Teléfono de Emergencia	:	CICOTOX- Centro De Información, Control Toxicológico y Apoyo a la Gestión Ambiental. Teléfono: 328-7398 Línea Gratuita: 0-800-1-3040 (Atención 24 h) ALO ESSALUD: 411-8000 opción 4/0801-10200

#### 2. COMPOSICIÓN: INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

Ingrediente activo	:	METHAMIDOPHOS
Nombre químico	:	O,S - dimethyl phosphoroamidothioate
N° CAS	:	10265-92-6
Tipo de formulación	:	Concentrado Soluble
Concentración	:	600 g/L
Aditivos	:	570 g/L

#### 3. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

**Clasificación toxicológica:** ALTAMENTE PELIGROSO - TOXICO

##### a) Peligros para la salud de las personas

- **Síntomas generales:** Los síntomas de intoxicación son: dolor de cabeza, calambres abdominales, diarrea, vómitos, etc. Manténgase al paciente abrigado y en reposo.
- **Efectos de una intoxicación severa:** El paciente muestra una marcada miosis y pérdida del reflejo de las pupilas frente a la luz, fasciculación muscular, calambres, parálisis flácida, secreciones de la boca y nariz, cianosis. La actividad del CE plasma es menor de 10% del valor normal.

Tecnología Química y Comercio S.A.  
Calle René Descartes N° 311, Urb. Sta. Raquel, 2da. Etapa Ate. Lima-Perú.  
Tel: 51(1) 612-6565 / Fax: 348-0840  
www.tqc.com.pe





**STERMIN® 600 SL (Methamidophos)**  
**Insecticida**



**11. INFORMACION TOXICOLOGICA**

DL <sub>50</sub> oral aguda en ratas	: 20 mg/kg
DL <sub>50</sub> dermal aguda en conejos	: 410 mg/kg
CL <sub>50</sub> inhalación aguda en ratas	: 0.3 mg/L (4h)
Irritación ocular (conejos)	: Irritación moderada
Irritación de la piel (conejos)	: Irritación leve
Sensibilización dermal	: No sensibilizante

**12. INFORMACION ECOLOGICA**

Toxicidad en organismos acuáticos	
• CL <sub>50</sub> (96 h) en peces (trucha arco iris)	: 25.0 mg/l
• CL <sub>50</sub> Daphnia (48 h)	: 0.026 mg/L
Toxicidad en aves	
• DL <sub>50</sub> Oral aguda en aves (Pato Mallard)	: 29.5 mg/kg
Toxicidad en abejas	
• DL <sub>50</sub> abeja	: 3.5 µg l.a./abeja

(\*) Información basada en el l.a. METHAMIDOPHOS TECNICO.

**13. CONSIDERACIONES SOBRE LA DISPOSICION DEL PRODUCTO**

**Método de eliminación del producto en los residuos**

- En casos en que grandes cantidades de producto dejen de ser usadas, deberá establecer una posible utilización del material (de ser necesario, consultar al fabricante/ distribuidor).
- Pequeñas cantidades de producto y envases vacíos sucios deberán empacarse y sellarse, etiquetarse y transferirse a un Inclinerador disponible, de acuerdo a las legislaciones locales.

**Eliminación de envases / embalajes contaminados**

- Realice el triple lavado de los envases vacíos antes de su disposición final.
- Después de usar el producto, enjuague tres veces el envase y vierta la solución en la mezcla de aplicación. Perfore el envase para evitar su reutilización y deposítelo en lugares destinados por las autoridades locales para este fin.

**14. INFORMACION SOBRE EL TRANSPORTE**

Designación de la mercadería: Plaguicida a base de organofosforado, líquido, tóxico, inflamable de punto de inflamación no inferior a 23 °C.

Clase : 6.1

N° ONU : 3017

**15. INFORMACION REGLAMENTARIA**

R10	: Inflamable
R24	: Tóxico en contacto con la piel.
R25	: Tóxico por ingestión.

Tecnología Química y Comercio S.A.  
Calle René Descartes N° 311, Urb. Sta. Raquel, 2da. Etapa Ato. Lima-Perú.  
Tel: 51(1) 612-6565 / Fax:348-0640  
www.tqc.com.pe





## Anexo 7. Preparación de las diluciones



**Fotografía 24.** Preparación de la solución madre



**Fotografía 25.** Dilución del plaguicida STERMIN 600 SL



**Fotografía 26.** Diluciones seriadas en matraz aforado



**Fotografía 27.** Dilución a diferentes concentraciones



**Fotografía 28.** Obtención de diluciones



**Fotografía 29.** Rotulado de las concentraciones

## Anexo 8. Realización de bioensayos



**Fotografía 30.** Preparado de unidades experimentales



**Fotografía 31.** Selección de especímenes



**Fotografía 32.** Organismos adultos de sexta generación



**Fotografía 33.** Organismos expuestos al plaguicida



**Fotografía 35.** Proceso de un bioensayo



**Fotografía 34.** Observación durante las 48 horas

**Anexo 9.** Datos obtenidos de cada bioensayo

Replicas	Concentración	Total individuos	Mortalidad 6 hrs	Mortalidad 8 hrs	Mortalidad 24 hrs	Mortalidad 48 hrs
R1	0,104	5	0	0	0	5
R2	0,104	5	0	0	0	5
R3	0,104	5	0	0	0	3
R4	0,104	5	0	0	0	5
R5	0,104	5	0	0	0	5
R1	0,052	5	0	0	0	5
R2	0,052	5	0	0	0	5
R3	0,052	5	0	0	0	5
R4	0,052	5	0	0	0	5
R5	0,052	5	0	0	0	4
R1	0,026	5	0	0	0	3
R2	0,026	5	0	0	0	5
R3	0,026	5	0	0	0	5
R4	0,026	5	0	0	0	5
R5	0,026	5	0	0	0	4
R1	0,013	5	0	0	0	5
R2	0,013	5	0	0	0	2
R3	0,013	5	0	0	0	5
R4	0,013	5	0	0	1	4
R5	0,013	5	0	0	3	2
R1	0,006	5	0	0	0	2
R2	0,006	5	0	0	0	5
R3	0,006	5	0	1	0	4
R4	0,006	5	0	0	0	4
R5	0,006	5	0	0	0	4

*Datos registrados del monitorio en el primer bioensayo*

Replicas	concentración	Total individuos	Mortalidad 24 hrs	Mortalidad 30 hrs	Mortalidad 32 hrs	Mortalidad 48 hrs
R1	0,104	5	4	4	4	4
R2	0,104	5	0	1	1	4
R3	0,104	5	1	3	3	4
R4	0,104	5	2	2	2	5
R5	0,104	5	0	0	0	0
R1	0,052	5	0	0	0	0
R2	0,052	5	0	0	0	0
R3	0,052	5	5	5	5	5
R4	0,052	5	3	3	3	3
R5	0,052	5	2	3	3	4
R1	0,026	5	1	1	5	5
R2	0,026	5	2	5	5	5
R3	0,026	5	3	3	3	3
R4	0,026	5	4	5	5	5
R5	0,026	5	4	4	4	5
R1	0,013	5	2	2	2	2
R2	0,013	5	1	1	1	3
R3	0,013	5	1	3	3	4
R4	0,013	5	1	1	1	2
R5	0,013	5	0	3	3	3
R1	0,006	5	0	3	4	5
R2	0,006	5	3	3	3	3
R3	0,006	5	0	1	1	1
R4	0,006	5	0	2	2	2
R5	0,006	5	1	1	1	3

*Datos registrados del monitoreo en el segundo bioensayo*

Replicas	Conc.	Total individuos	Mortalidad 6 hrs	Mortalidad 8 hrs	Mortalidad 24 hrs	Mortalidad 30 hrs	Mortalidad 32 hrs	Mortalidad 48 hrs
R1	0,104	5	0	1	4	4	4	5
R2	0,104	5	0	1	5	5	4	5
R3	0,104	5	0	1	5	5	5	5
R4	0,104	5	0	0	4	5	5	5
R5	0,104	5	0	0	4	4	5	5
R1	0,052	5	0	1	3	4	5	5
R2	0,052	5	0	0	4	4	4	5
R3	0,052	5	0	2	5	5	5	5
R4	0,052	5	0	0	2	3	3	4
R5	0,052	5	0	0	4	4	4	5
R1	0,026	5	0	1	3	4	4	5
R2	0,026	5	0	1	3	4	4	4
R3	0,026	5	0	1	4	4	4	5
R4	0,026	5	0	1	3	3	4	4
R5	0,026	5	0	1	3	4	4	4
R1	0,013	5	0	2	3	4	4	4
R2	0,013	5	0	1	4	4	4	4
R3	0,013	5	0	1	5	5	5	5
R4	0,013	5	0	1	4	4	4	4
R5	0,013	5	0	2	3	3	4	4
R1	0,006	5	0	0	3	3	4	4
R2	0,006	5	0	0	3	3	3	3
R3	0,006	5	0	0	2	2	2	2
R4	0,006	5	0	0	2	2	4	4
R5	0,006	5	0	0	0	2	3	3

*Datos registrados del monitoreo en el tercer bioensayo*

Replicas	Conc.	Total individuos	Mortalidad 6 hrs	Mortalidad 8 hrs	Mortalidad 24 hrs	Mortalidad 30 hrs	Mortalidad 32 hrs	Mortalidad 48 hrs
R1	0,104	5	0	1	3	4	4	5
R2	0,104	5	0	0	3	3	3	5
R3	0,104	5	0	0	2	2	2	5
R4	0,104	5	0	0	3	3	3	4
R5	0,104	5	0	0	3	3	3	4
R1	0,052	5	0	0	2	2	2	4
R2	0,052	5	0	0	3	3	3	3
R3	0,052	5	0	2	5	5	5	5
R4	0,052	5	0	0	3	3	3	3
R5	0,052	5	0	0	2	2	2	2
R1	0,026	5	0	0	4	4	4	4
R2	0,026	5	0	0	4	4	4	3
R3	0,026	5	0	0	3	3	3	3
R4	0,026	5	0	0	3	3	3	4
R5	0,026	5	0	0	2	4	4	2
R1	0,013	5	0	0	3	3	3	2
R2	0,013	5	0	0	3	3	3	3
R3	0,013	5	0	0	2	3	3	4
R4	0,013	5	0	0	0	0	0	0
R5	0,013	5	0	0	3	3	3	4
R1	0,006	5	0	0	2	2	2	3
R2	0,006	5	0	0	3	3	3	3
R3	0,006	5	0	0	0	0	0	2
R4	0,006	5	0	0	0	0	0	1
R5	0,006	5	0	0	0	0	0	0

*Datos registrados del monitoreo en el cuarto bioensayo*