

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA

ESCUELA DE POSGRADO

UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**RIESGO TOXICOLÓGICO DE PLAGUICIDAS RESIDUALES ORGANOFOSFORADOS
Y ORGANOCLORADOS APLICADOS EN EL CULTIVO DE PAPA (2017) EN
CHINCHERO-CUSCO**

Tesis presentada por:

JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN

**Para optar al Grado Académico de Doctora
en Biología Ambiental**

Asesor:

Dr. BENJAMIN JOSÉ DÁVILA FLORES

AREQUIPA-PERÚ

2021

JURADO CALIFICADOR

DR. GRACIANO DEL CARPIO TEJADA
PRESIDENTE

DR. CLIMACO PASTOR COAYLA PEÑALOZA
SECRETARIO

DR. BENJAMIN JOSE DAVILA FLORES
ASESOR

FECHA DE SUSTENTACION 01-10-2021

CONSTANCIA

El Dr. BENJAMÍN JOSÉ DÁVILA FLORES

HACE CONSTAR:

Que el trabajo de investigación correspondiente a la presente Tesis de Doctorado, titulado “RIESGO TOXICOLÓGICO DE PLAGUICIDAS RESIDUALES ORGANOFOSFORADOS Y ORGANOCORADOS APLICADOS EN EL CULTIVO DE PAPA (2017) EN CHINCHERO-CUSCO”, ha sido realizado por la Mgt. JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN, bajo mi dirección.

DR. BENJAMÍN JOSÉ DÁVILA FLORES

ASESOR

DECLARACION JURADA DE AUTORIA

Yo, JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN, de nacionalidad peruana, con documento de identidad N°23822964 de profesión Bióloga con CBP N°1860, declaro bajo juramento que:

La presente tesis Titulada:

“RIESGO TOXICOLÓGICO DE PLAGUICIDAS RESIDUALES ORGANOFOSFORADOS Y ORGANOCORADOS APLICADOS EN EL CULTIVO DE PAPA (2017) EN CHINCHERO-CUSCO”,

ES DE MI AUTORIA

Me afirmo y me ratifico en lo expresado, en señal de lo cual firmo el presente documento en la ciudad de Arequipa a los 20 días del mes de noviembre de 2021.

JULIA GRISELDA MUÑIZ DURAN

DNI 23822964

DEDICATORIA

A mi familia, por su invalorable y permanente apoyo, alentándome siempre, para lograr este objetivo y cumplir con este sueño.

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud y reconocimiento especial al Dr. Benjamín José Dávila Flores, asesor de tesis, por su valioso apoyo, dedicación, consejos e insistencia para concretar esta investigación.

Al Ing. Ladislao Palomino, Director del programa de Papa del INIA-Cusco, por su apoyo en la zonificación para el muestreo de papa y suelo utilizados en la presente investigación.

Al personal responsable del Laboratorio Fractal Químicos, por la ejecución de los análisis cromatográficos de las muestras.

A Estefany y Milton, quienes colaboraron en la toma de muestra para la realización del presente trabajo.

A todos los docentes, amigos y compañeros del doctorado, por todos los buenos momentos compartidos.

INDICE

DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTOS	vi
INDICE	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1. Planteamiento del Problema.....	3
1.1.1. Descripción del Problema.....	3
1.1.2. Antecedentes del Problema	4
1.1.3. Problemática de la Investigación.....	5
1.1.4. Formulación del Problema	6
1.1.4.1. Problema central.....	6
1.1.4.2. Problemas Específicos.....	6
1.2. Justificación e Importancia.....	6
1.3. Alcances y Limitaciones.....	8
1.4. Objetivos de la Investigación.....	8
1.4.1. Objetivo General	8
1.4.2. Objetivos Específicos.....	8
1.5. Hipótesis	9
CAPITULO II	10
MARCO TEÓRICO	10
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	10
2.2. Marco Conceptual.....	16
2.2.1. La Papa Cultivada	16
2.2.2. Plaguicidas.....	18

2.2.2.1.	Clasificación de los plaguicidas.....	19
2.2.3.	Metabolismo y Degradación de los Plaguicidas	22
2.2.4.	Movimiento y Destino de los Plaguicidas en el Ambiente	23
2.2.5.	Técnicas Analíticas para la Detección de Plaguicidas	24
2.2.6.	Regulación Normativa Aplicable.....	25
2.2.7.	Exposición por Residuos de Plaguicidas en Alimentos	29
2.2.7.1.	Evaluación de riesgo toxicológico alimentario.	31
2.2.7.2.	Componentes del análisis de riesgo para los peligros químicos.	32
2.2.8.	Exposición por Residuos de Plaguicidas en el Ambiente	36
2.2.8.1.	Evaluación de Riesgo Toxicológico Ambiental	37
2.2.8.2.	ERA de Pesticidas	40
2.2.9.	Biomarcadores	41
2.2.9.1.	Relación Dosis-Respuesta.....	42
2.2.9.2.	Parámetros Toxicológicos Determinados a Través de las Pruebas de Toxicidad.	43
CAPITULO III	45
MARCO METODOLÓGICO	45
3.1.	Tipo y Diseño de la Investigación	45
3.1.1.	Tipo de Fuente	45
3.1.2.	Temporalidad	45
3.1.3.	Amplitud y Organización de los Datos.....	45
3.1.4.	Tipo de Investigación.....	46
3.2.	Variables	46
3.2.1.	Variable Independiente.....	46
3.2.2.	Variable Dependiente	46
3.3.	Área de Estudio	47
3.4.	Metodología.....	47
3.4.1.	Diseño Metodológico	47
3.4.2.	Toma de Muestras de Papa y Suelo para Determinación de Plaguicidas Residuales	48
3.5.	Determinación de Plaguicidas Residuales por Cromatografía de Gases y HPLC.....	55
3.6.	Determinación de Riesgo Toxicológico Alimentario	57
3.7.	Determinación de Riesgo Ambiental.....	60
3.7.1.	Determinación de Plaguicidas Residuales por Cromatografía de Gases y HPLC.....	60
3.7.2.	Bioensayos para Valoración Toxicológica.....	60

3.7.3.	Prueba de Toxicidad con Vicia faba	61
3.7.4.	Determinación de Parámetros de Riesgo Toxicológico Ambiental	63
3.7.5.	Evaluación de Riesgo Ambiental.....	64
3.8.	Procesamiento y Análisis de Datos.....	68
CAPITULO IV.....		69
RESULTADOS Y DISCUSION		69
4.1.	Determinación de Riesgo Toxicológico Alimentario	69
4.1.1.	Identificación y Caracterización de Toxicidad en Papa	69
4.1.2.	Análisis de la Exposición por Plaguicidas Residuales en Papa	72
4.1.3.	Determinación de Riesgo Alimentario.....	84
4.2.	Determinación de Riesgo Ambiental.....	89
4.2.1.	Identificación y Caracterización de Toxicidad en Suelo	89
4.2.2.	Efecto Toxicológico de los Plaguicidas Metamidafos y Clorotanolil Mediante Bioensayos	99
4.2.2.1.	Efecto letal de plaguicidas evaluados por la inhibición de germinación en <i>Vicia faba</i> .	99
4.2.2.2.	Efecto Sub-Letal de Plaguicidas Evaluados por Inhibición de Crecimiento Radicular en <i>Vicia faba</i>	103
4.2.2.3.	Efecto Letal de Plaguicidas Evaluados por Mortalidad en <i>Eisenia foetida</i>	106
4.2.2.4.	Efecto Sub Letal de Plaguicidas Evaluado por Diferencia de Peso en <i>Eisenia foetida</i>	109
4.2.3.	Determinación De Parámetros Toxicológicos.....	111
4.2.3.1.	Determinación de la CL50.....	111
4.2.3.2.	Determinación de NOEC/NOAEL y LOEC/LOAEL en <i>Vicia faba</i>	113
4.2.3.3.	Determinación de NOEC/NOAEL y LOEC/LOAEL en <i>Eisenia foetida</i>	117
4.2.4.	Caracterización de Riesgo Ambiental	120
CONCLUSIONES.....		125
SUGERENCIAS		127
BIBLIOGRAFÍA		128
ANEXOS.....		138

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de Plaguicidas recomendada por la OMS	20
Tabla 2 Procedencia de Muestras de papa colectadas para Determinación de Plaguicidas Residuales	51
Tabla 3 Procedencia de Muestras de suelo colectadas para determinación de Plaguicidas Residuales	53
Tabla 4 Concentración de plaguicidas residuales y Límite Máximo Residual- LMR en Muestras de Papas procedentes de tres Comunidades de Chinchero-Cusco.....	75
Tabla 5 Determinación de la Ingesta Diaria Máxima Teórica de Residuos de un Plaguicida (IDMTexp).....	86
Tabla 6 Determinación de Riesgo Alimentario de Plaguicidas Residuales en Papa Cultivada ...	88
Tabla 7 Concentración de plaguicidas residuales y Estándar Internacional de Calidad Ambiental-ECA en Muestras de Suelos procedentes de tres Comunidades de Chinchero-Cusco.	92
Tabla 8 Concentración Letal Media (LC/EC50) y Límites de Confianza de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Vicia faba</i>	112
Tabla 9 Concentración Letal Media (LC/EC50) y Límites de Confianza de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Eisenia foetida</i>	112
Tabla 10 Determinación de NOEC y LOEC por Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Vicia faba</i>	115
Tabla 11 Determinación de NOAEL y LOAEL por Efecto Sub letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Vicia faba</i>	116
Tabla 12 Determinación de NOEC y LOEL por Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Eisenia foetida</i>	118
Tabla 13 Determinación de NOAEL y LOAEL por Efecto Sub Letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Eisenia foetida</i>	119
Tabla 14 Parámetros Eco-Toxicológicos Evaluados	121
Tabla 15 Determinación de Riesgo Ambiental de Metamidafos y Clorotanolil.....	121

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso General de la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA)	39
Figura 2. Flujograma de Estrategia Experimental	50
Figura 3. Mapa de ubicación geográfica de los puntos de muestreo de papa.....	52
Figura 4. Mapa de ubicación geográfica de los puntos de muestreo de suelo.....	54
Figura 5. Esquema de procedimiento de Análisis de Plaguicidas Residuales por GC en Papas y Suelos -Laboratorio FRAQTAL	56
Figura 6. Procedimiento de Evaluación de Riesgo Toxicológico Alimentario	57
Figura 7. Procedimiento de evaluación de riesgo ambiental	65
Figura 8. Características de Plaguicidas Residuales Detectados en Muestras de Papas y Suelo	71
Figura 9. Concentración de Plaguicidas Residuales Organofosforados y Organoclorados en Muestras de Papa procedentes de Tres Comunidades de Chinchero-Cusco.....	76
Figura 10. Cuantificación Plaguicidas Organofosforados Residuales en Papa comparados con los LMR.....	80
Figura 11. Cuantificación Plaguicidas Organoclorados Residuales en Papa comparados con los LMR.....	83
Figura 12. Concentración de Plaguicidas Residuales Organofosforados y Organoclorados en Muestras de Suelos procedentes de Tres Comunidades de Chinchero-Cusco.....	93
Figura 13. Cuantificación Plaguicidas Organofosforados Residuales en Suelos de cultivo de papa comparados con los ECA Internacional.....	95
Figura 14. Cuantificación Plaguicidas Organoclorados Residuales en Suelos de cultivo de papa comparados con los ECA Internacional.....	97
Figura 15. Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanolil en la Inhibición de Germinación (IG) de <i>Vicia faba</i>	102
Figura 16. Efecto Sub letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Vicia faba</i>	105
Figura 17. Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Eisenia foetida</i>	108
Figura 18. Efecto Sub letal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Eisenia foetida</i>	110

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Ficha Técnica de Clorotanolil	139
ANEXO 2. Ficha Técnica de Metamidafos.....	140
ANEXO 3. Resultados de Plaguicidas Organoclorados y Organofosforados en papa cultivada en Chinchero-Cusco.....	142
ANEXO 4. Análisis de Plaguicidas Residuales: Cromatogramas de Algunas Muestras de Papa	143
ANEXO 5. Resultados de Análisis de Plaguicidas Organoclorados y Organofosforados en Suelos de Cultivo de papa en Chinchero-Cusco	144
ANEXO 6. Análisis de Plaguicidas Residuales: Cromatogramas de algunas Muestras de Suelo	145
ANEXO 7. Tabla de Datos del Efecto de Metamidafos en la Germinación y Crecimiento Radicular (mm) de <i>Vicia faba</i>	146
ANEXO 8. Tabla de Datos del Efecto de Clorotanolil en la Germinación y Crecimiento Radicular (mm) de <i>V. faba</i>	147
ANEXO 9. Tabla de Datos del Efecto de Metamidafos en la Mortalidad y Diferencia de Peso Húmedo (mg) de <i>E. foetida</i>	148
ANEXO 10. Tabla de Datos del Efecto de Clorotanolil en la Mortalidad y Diferencia de Peso Húmedo (mg) de <i>E. foetida</i>	149
ANEXO 11. Resultados de Analisis Probit y CL50 en <i>V. faba</i> por efecto de Metamidafos y Clorotanolil	150
ANEXO 12. Resultados de Analisis Probit y CL50 en <i>E.foetida</i> por efecto de Metamidafos y Clorotanolil	151
ANEXO 13. Parámetros Estadísticos del efecto subletal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Vicia faba</i>	152
ANEXO 14. Parámetros Estadísticos del efecto subletal de Metamidafos y Clorotanolil en <i>Eisenia foetida</i>	153

RESUMEN

El objetivo fue determinar el riesgo toxicológico alimentario y ambiental como resultado de la utilización de plaguicidas en el cultivo de papa en 3 comunidades del distrito de Chinchero, Cusco 2017. La investigación se organizó en 3 fases: En la fase I, se realizaron análisis cromatográficos (HPLC y GC) de plaguicidas residuales (ppm) organoclorados y organofosforados en muestras colectadas de papa y suelo. En la fase II, los resultados de los plaguicidas cuantificados fueron comparados con los Límites Máximos Residuales (LMR) del *Codex* y los ECAs Internacionales respectivamente, se determinó los parámetros toxicológicos mediante bioensayos con Metamidafos y Clorotanolil en *Vicia faba* y *Eisenia foetida*. En la fase III, se determinó el riesgo toxicológico alimentario utilizando el criterio de evaluación por bandas porcentuales y el riesgo ambiental utilizando la determinación de Cociente de Riesgo. De las 09 muestras de papa analizadas, 7 exceden los LMR de Metamidofos en papa (0,05ppm). Malation (0.5 ppm) fue detectado en el total de muestras. El Clorotanolil excede en 08 muestras los LMR(0.01ppm), todas las muestras presentaron valores superiores a los permitidos en papa de Heptacloro LMR (0.01ppm) y Endosulfan LMR(0.05ppm). De las 09 muestras de suelo analizadas, el total de muestras presentan valores por encima del ECA utilizado de Metamidafos (0.003ppm) y Malation (1.2ppm), Paration fue detectado en 05 muestras con valores superiores al ECA (0.37ppm). Clorotanolil, fue detectado con valores inferiores al ECA(0.47ppm). En la caracterización de riesgo alimentario, se determinó que Metamidafos (6.6125) representa un Riesgo Alto con categoría de no aptos para el consumo humano. Malation (0.58) representa un Riesgo Medio y Paration (0.2) representó un Riesgo Bajo. El Clorotanolil (0.3), fue el residuo organoclorado con Riesgo Medio. Diclorvos, Heptacloro y Endosulfan presentaron Riesgo Bajo. En la caracterización de riesgo ambiental, se determinó un Cociente de Riesgo (CR) de 2,46 para Metamidafos, representando riesgo ambiental moderado, mientras que para Clorotanolil se estimó un CR de 0.04 representando un riesgo ambiental bajo.

Palabras claves: Plaguicidas, Organoclorados, Organofosforafos, Papa, Toxicidad, Riesgo

ABSTRACT

The objective was to determine the food and environmental toxicological risk as a result of the use of pesticides in potato cultivation in 3 communities of the district of Chinchero, Cusco

2017. The research was organized in 3 phases: In phase I, chromatographic analyzes were carried out (HPLC and GC) of residual pesticides (ppm) organochlorines and organophosphates with samples collected from potato and soil. In phase II, the results of the quantified pesticides were compared with the Maximum Residual Limits (MRLs) of the Codex and the International RCTs respectively, the toxicological parameters were determined by bioassays with Metamidaphos and Chlorotanilil in *Vicia faba* and *Eisenia foetida*. In phase III, the food toxicological risk was determined using the evaluation criteria by percentage bands and the environmental risk using the Risk Quotient determination. Of the 09 potato samples analyzed, 7 exceeded the MRLs for Methamidophos in potato (0.05ppm). Malathion (0.5 ppm) was detected in all samples. Chlorotanilil exceeds the MRLs (0.01ppm) in 08 samples, all samples presented values higher than those allowed in potatoes of Heptachlor LMR (0.01ppm) and Endosulfan LMR (0.05ppm). Of the 09 soil samples analyzed, the total of samples presented values above the used ECA of Metamidafos (0.003ppm) and Malalation (1.2ppm), Paration was detected in 05 samples with values higher than the ECA (0.37ppm). Chlorotanilil was detected with values lower than the ECA (0.47ppm). In the food risk characterization, it was determined that Metamidafos (6.6125) represents a High Risk with the category of unfit for human consumption. Malalation (0.58) represents Medium Risk and Paration (0.2) represents Low Risk. Chlorotanilil (0.3) was the organochlorine residue with Medium Risk. Dichlorvos, Heptachlor and Endosulfan presented Low Risk. In the environmental risk characterization, a Risk Quotient (CR) of 2.46 was determined for Metamidafos, representing moderate environmental risk, while for Chlorotanilil a CR of 0.04 was estimated representing a low environmental risk.

Keywords: Pesticides, Organochlorines, Organophosphoraphs, Potato, Toxicity, Risk

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son esenciales en la agricultura moderna para controlar las plagas y para incrementar la productividad de los cultivos, esto junto a otros factores como la adopción de variedades de cultivos mejoradas, el empleo de fertilizantes sintéticos, la optimización de los sistemas de riego, el uso de compuestos orgánicos sintéticos, son en la actualidad indispensables para satisfacer la creciente demanda de alimentos en la producción mundial. Dentro del grupo de contaminantes orgánicos persistentes destacan los plaguicidas organoclorados, que fueron creados con la finalidad de matar y controlar plagas como la maleza, insectos que amenazan los cultivos agrícolas, entre otros, su uso genera beneficios fitosanitarios, sin embargo, debido a las características químicas que presentan, se han convertido en sustancias nocivas para el ser humano y el ambiente (SEMARNAP, 2000).

A nivel mundial, el cultivo de papa representa la tercera fuente de alimento más importante después del arroz y el trigo (CIP, 2016a). El Perú es el primer productor de papa en América Latina y onceavo país a nivel internacional, el 90% del cultivo (318,530 ha/año) y cosecha (14,5 t/ha) de este tubérculo se genera en la sierra (INEI, 2017), principalmente en Puno, Huánuco, Cusco, Cajamarca, Huancavelica y Junín. Representa la cuarta fuente de ingresos más representativa para el agricultor, antecedida por el arroz, el trigo y el maíz; aporta el 4% del Producto Bruto Interno Agrícola (CIP, 2016b). De las 4 500 variedades de papas, 2 500 son papas nativas del Perú (INEI, 2017)

En la actualidad existe un gran interés sobre los contaminantes ambientales con relación a la seguridad alimentaria. Los residuos de plaguicidas son considerados como sustancias potencialmente tóxicas en los alimentos y constituyen un motivo de preocupación para los consumidores. La presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos se debe principalmente al uso indiscriminado de éstos en la agricultura; la eliminación de los plaguicidas depende de diversos factores como el crecimiento propio del vegetal, la acción de agentes atmosféricos como el viento y la lluvia, el grado de solubilidad y volatilidad del plaguicida, el tipo de degradación química que

sufra y la naturaleza del propio plaguicida, otro factor importante es el intervalo de seguridad recomendado para cada plaguicida.

En el distrito de Chinchero-Cusco, la agricultura es una de las actividades productivas más importantes de la zona y tiene un gran valor social y cultural, por lo que, el uso de plaguicidas en el cultivo de papa, se viene incrementando con la finalidad de obtener mayor rendimiento por área cultivada, combatiendo así a las diversas plagas que pueden diezmar ese cultivo; por esta razón, en la presente investigación se plantea determinar el riesgo toxicológico de los plaguicidas utilizados en el cultivo de papa en el distrito de Chinchero, Cusco.

CAPÍTULO I

1.1. Planteamiento del Problema

1.1.1. Descripción del Problema

Los plaguicidas, además de contribuir a mejorar las condiciones económicas, de salud y alimenticias, han originado problemas de contaminación ambiental generando un gran impacto ecológico puesto que pueden originar la extinción de especies útiles y la aparición y proliferación de plagas resistentes y además generan potenciales riesgos para la salud y el ambiente. Una vez aplicados tienen un impacto sobre todos los componentes y fases del ambiente, llegan al aire, suelo y agua y a través de éstas, afectan todas las formas de vida puesto que no son específicos y afectan a muchas especies que no son objetivos de su aplicación, y es el hombre el organismo que por ocupar las cúspides de la cadena alimenticia quien recibe las máximas concentraciones y contaminantes (Anónimo, 1986).

En nuestro país la contaminación de alimentos es de gran importancia y un grave problema, un ejemplo se da en la papa; ya que donde la dieta nacional en el Perú se basa en dicho alimento; es un cultivo en el cual, se utiliza una gran variedad de plaguicidas; se estima que del total de plaguicidas usados en el Perú, aproximadamente 20% se destina a este cultivo; el incremento en el uso de plaguicidas ha tenido como consecuencia que se encuentren residuos de estos compuestos en los alimentos dando lugar a la reducción de la calidad del tubérculo; los plaguicidas más utilizados para este cultivo son los organofosforados, organoclorados y los carbamatos. Dentro de los plaguicidas, los organoclorados resultan ser los de mayor toxicidad crónica para el hombre y el medio ambiente por su elevada persistencia, así como por su efecto acumulativo. No es de extrañar, entonces, que se encuentren niveles de plaguicidas en alimentos debido a la translocación de éstos del medio ambiente, aun cuando haya sido prohibida su aplicación hace varios años.

El Perú, es el país con la mayor diversidad y variabilidad genética de papas en el planeta. Los agricultores andinos, para aprovechar la gran oferta ambiental que disponen, han generado una diversidad de ocho especies cultivadas y cientos de cultivares dentro de cada especie, como herramienta tecnológica, sostenible en el tiempo. Actualmente, toda la diversidad y variabilidad de la papa, se encuentra en uso de parte de los pequeños agricultores de las comunidades andinas y existe factores negativos gravitantes para su conservación, entre estos el desplazamiento por cultivos más rentables, agudización de los efectos climáticos adversos, migración de la población rural hacia otros sectores.

Lo antes expuesto ha motivado la realización del presente trabajo el mismo que permitirá evaluar muestras de papa cultivadas y suelos en la zona productora de Chinchero para su consumo en la ciudad del Cusco, La determinación de riesgo toxicológico fue mediante análisis de plaguicidas residuales utilizando Cromatografía de Gases (GC) y Cromatografía Líquida de Alta resolución (HPLC) que permitió evaluar la presencia y concentración de los residuos de plaguicidas y con éstos, determinar el riesgo toxicológico tanto en las muestras de papa como en las de suelo.

1.1.2. Antecedentes del Problema

En la década de 1950 los plaguicidas químicos fueron lanzados a nivel internacional como un milagro de la ciencia y una panacea para enfrentar a los problemas de plagas. Promovidos por poderosas corporaciones multinacionales, agencias internacionales de ayuda y por las políticas gubernamentales, los plaguicidas se han expandido a nivel mundial con la llamada y a través de las políticas de libre comercio. El uso frecuente de los plaguicidas contribuye a la crisis de la agricultura, dificultando la preservación de los ecosistemas, los recursos naturales, y afectando la salud de las comunidades rurales y de los consumidores urbanos. La necesidad de la productividad a corto plazo por encima de la sustentabilidad ecológica, practicada en las últimas décadas, ha dejado un saldo a nivel

mundial de contaminación y envenenamiento donde el pretendido remedio universal ha resultado ser peor que la enfermedad (Sánchez O. , 2008).

Por otro lado, el uso sistemático de esos químicos crea resistencia en los insectos, hongos y malezas que pretenden atacar. Al aplicar plaguicidas, se ataca tanto a los organismos considerados plaga como a los insectos y parásitos benéficos, pues se rompe el equilibrio biológico natural propiciando el surgimiento de nuevas plagas o el resurgimiento de las ya establecidas. El aumento en el número de aplicaciones, la elevación de las dosis y la preparación mezclando distintos tipos de plaguicidas, no hace sino agravar más los problemas desatando una espiral creciente de contaminación.

Ante las medidas de prohibición de muchos productos y el aumento de los costos de inversión para introducir los nuevos en el mercado de los países desarrollados, las compañías multinacionales han respondido exportando al Tercer Mundo aquellos tóxicos. En el caso de EEUU, el 25% de los plaguicidas exportados a aquellos países son productos prohibidos o sin registro interno debido a los comprobados daños a la salud y al ambiente. Ese comercio infame, conducido por las corporaciones transnacionales, con el aval de los países productores y la de muchos gobiernos de los países del Tercer Mundo, provoca graves daños en el medio ambiente y la salud de las poblaciones (Sánchez O. , 2008).

1.1.3. Problemática de la Investigación.

La contaminación de alimentos es un gran problema, un ejemplo se da en la papa; ya que el Perú es un país donde la dieta nacional se basa en dicho alimento; cultivo peruano en el cual se utiliza una gran variedad de plaguicidas; se estima que del total de plaguicidas usados en el Perú, aproximadamente 20% se destina a este cultivo; el incremento en el uso de plaguicidas tienen como consecuencia, encontrar en los alimentos residuos de estos compuestos, dando lugar a la reducción de la calidad del tubérculo, siendo los plaguicidas organofosforados los más utilizados

para este cultivo. Las investigaciones sobre efecto toxicológico por plaguicidas residuales han sido realizadas mayoritariamente a nivel latinoamericano, por lo tanto, se deduce que el tema de investigación no ha sido abordado en nuestro medio. Tratándose de uno de los principales alimentos destinados al consumo humano es necesario determinar si reúnen condiciones de calidad que garanticen la salud de las personas que las consumen.

1.1.4. Formulación del Problema

1.1.4.1. Problema central.

¿Los niveles de contaminación por el uso de plaguicidas en los cultivos de papa en Chinchero (Cusco) constituyen un riesgo toxicológico para la salud humana y el ambiente?

1.1.4.2. Problemas Específicos.

¿Cuáles son los niveles de toxicidad generados por el uso de plaguicidas en papas procedente de Chinchero para su consumo en la ciudad del Cusco?

¿El riesgo toxicológico para la salud humana y el ambiente de los plaguicidas utilizados en el cultivo de papa puede ser valorado mediante bioensayos de toxicidad?

1.2. Justificación e Importancia

Los plaguicidas son utilizados ampliamente en todo el mundo y la exposición a éstos sigue siendo un importante problema de salud y ambiental (Bortoli et al., 2009), representan una de las familias de productos químicos más empleadas por el hombre, para el control de plagas agrícolas y su aplicación se considera la medida más aceptada y efectiva para lograr la máxima producción y la mayor calidad de los cultivos. Sin embargo, el uso frecuente e intenso de plaguicidas

encaminado a proteger los cultivos agrícolas, causan al mismo tiempo, impactos al ambiente y también hacia la salud humana.

Los plaguicidas generan problemas de intoxicación para las personas que manipulan, aplican o trabajan con estos productos pudiendo afectar el crecimiento y la sobrevivencia por alteraciones de los factores reproductivos, y en el caso de toxicidad aguda podrían causar la muerte de los organismos expuestos (Castillo, 2004).

Diversos estudios de biomonitorio han evidenciado el daño al DNA generado por la exposición a estos compuestos. También se le ha relacionado a largo plazo con carcinogénesis, mutagénesis, efectos reproductivos y hormonales, entre otros. Razón por la que, existe regulación en la distribución y utilización de plaguicidas especificando la cantidad de aplicación del plaguicida, que debe ser, lo más baja posible, así como, asegurar el tiempo de espera, con un intervalo entre la aplicación y el consumo del producto, lo más amplio posible, garantizando así, que el residuo se reduzca al mínimo.

Los contaminantes, de acuerdo a su toxicidad, se clasifica en tres categorías toxicológicas: nocivos, tóxicos y muy tóxicos. En algunos casos pueden tener otros efectos peligrosos (corrosivos, inflamables, comburentes, explosivos). Estas clasificaciones son útiles para una adecuada tipificación y conocimiento de la peligrosidad de un determinado compuesto, aunque en realidad debido a los diversos mecanismos de actuación y acciones secundarias de cada contaminante, existe más variedad (Coscollá & Coscollá, 2006)

De las 4 500 variedades de papas, 2 500 son papas nativas del Perú, son una fuente importante de proteínas y energía con cantidades significativas de vitaminas C, B6 y B1, ácido fólico, potasio, fósforo, calcio, Fe y Zn; tienen un alto contenido en fibra dietética y rica en antioxidantes, incluyendo polifenoles y tocoferoles (CGIAR – RTB, 2016) y su consumo en la dieta humana promedia los 85 kg por habitante al año, representando un consumo de 0.23k/día/habitante (INEI, 2017).

La papa resulta particularmente interesante y fue seleccionada en el presente estudio debido a que constituye un producto de alto consumo en el país. Otra razón, es que la papa es un producto que brinda información sobre la impregnación de los plaguicidas en el suelo por ser un órgano subterráneo.

1.3. Alcances y Limitaciones

El presente estudio explora el grado de toxicidad de plaguicidas residuales en tres comunidades agrícolas del distrito de Chinchero Provincia de Urubamba, Región Cusco La falta de laboratorios implementados para el análisis en la Región Cusco y el elevado costo de los análisis de plaguicidas residuales por HPLC y GC en el Laboratorio FRAQTAL SA.-Lima, ha representado una importante limitación para determinar el tamaño de muestras de suelos y papas.

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General

Evaluar el riesgo toxicológico de plaguicidas residuales organofosforados y organoclorados en el cultivo de papa en Chinchero-Cusco

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de plaguicidas residuales en papa y suelos procedentes de las comunidades en estudio.
- Determinar el riesgo toxicológico alimentario de plaguicidas residuales en papa utilizando el Límite Máximo Residual (LMR) establecido por el *Codex Alimentarius* y parámetros de riesgo.
- Determinar el riesgo toxicológico ambiental de Metamidafos y Clorotanolil mediante parámetros evaluados mediante bioensayos en *Vicia faba* L. y *Eisenia foetida*.

1.5. Hipótesis

Existe riesgo toxicológico por los plaguicidas residuales organofosforados y organoclorados utilizados en el cultivo de papa en Chinchero-Cusco.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Giannuzzi L. (1994); En Residuos de Plaguicidas Organoclorados en Papas que se comercializan en la Ciudad de La Plata y Gran La Plata (Argentina), reporta que los residuos de plaguicidas organoclorados fueron determinados en diferentes períodos durante los años 1991 y 1992 en muestras de papa que se comercializan a través del Mercado de la ciudad de La Plata, Argentina. Las determinaciones se realizaron sobre papa entera, pulpa y cáscara. Los plaguicidas organoclorados detectados en mayor cantidad fueron el heptacloro (0,041 ppm) y el lindano (0,030 ppm) con residuos menores a los máximos permitidos internacionalmente. Los mayores residuos fueron detectados en cáscara observándose la existencia de diferencias significativas entre la cáscara y la pulpa.

Jerez F. S. L. (1999); En, Determinación de pesticidas Organoclorados en suelo agrícola y productos agropecuarios de la Comuna de Chonchi, Provincia de Chiloé, evalúa la presencia o ausencia de pesticidas organoclorados en suelo y productos de origen animal y vegetal, las muestras fueron: suelo agrícola (6), leche bovina (3), carne de cerdo (3), arvejas (*Pisum sativum*) (3), ajos (*Allium ampeloprosom*) (3), papas (*Solanum tuberosum*) (3) y mermelada de frutas (3). Cada una fue sometida a análisis de los organoclorados: hexaclorobenceno (HCB), a y p BHC, lindano, aldrín, dieldrín, endrín, heptacloro y su epóxido, DDT y metabolitos, endosulfán, clordano y toxáfeno. Los pesticidas organoclorados mencionados, no fueron detectados por el análisis cromatográfico, en ninguna de las muestras. La ausencia de plaguicidas, constituye una ventaja,

para la comercialización de los productos estudiados, y puede ser considerado como un punto de partida para su certificación como productos orgánicos.

Guerrero D. J. (2004); En Evaluación y Estudio del Efecto Residual de la aplicación de Plaguicidas en Productos de Cosecha, evalúa la presencia de residuos de plaguicidas de alto riesgo en fresa, repollo, tomate y papa, cultivos representativos de diferentes regiones de Colombia y determina la calidad de estos alimentos. El estudio de campo y la toma de muestras se efectuó en municipios de Cundinamarca, Boyacá y Huila; Colombia. En la mayoría de las muestras (96,4%) no se encontraron residuos que sobrepasaran los límites máximos de residuos, LMRs. Se encontraron tres muestras positivas con residuos de plaguicidas (4,6%); dos muestras con residuos de clorpirifos en tomate, y una muestra con residuos de aldicarb en papa.

Iannacone J. et. al. (2007); evaluaron la Toxicidad del metamidofos bajo dos formulaciones de diferente categoría toxicológica (monofós- ia y tamarón - ib) sobre cuatro organismos acuáticos no destinatarios: *Chironomus calligraphus*, *Tetrapygyus niger*, *Paracheiroduon innesi* y *Oncorhynchus mykiss*, mediante la evaluación del riesgo ambiental. Encontraron que la secuencia de sensibilidad al metamidofos en ambas formulaciones fue *C. calligraphus* > *O. mykiss* = *P. innesi* > *T. niger*, para los cuales se estimó la CL50. Además, a través de la estimación de los cocientes de riesgo (CR) con ambas formulaciones del metamidofos en todos los casos se provocó un alto riesgo del metamidofos en el ambiente acuático, a través de la estimación del “peor caso teórico” considerando como valor PEC la dosis recomendada para dichos productos.

Murcia A. M., Stashenko E., (2008); En Determinación de plaguicidas órgano fosforados en vegetales producidos en Colombia, señalan que en Colombia el diagnostico, la vigilancia y el monitoreo de plaguicidas en alimentos aún no se ha implementado de forma eficaz, y existe una tendencia fuerte de los agricultores a usar plaguicidas en forma excesiva, especialmente por

motivaciones económicas. En este trabajo se presenta la determinación de los plaguicidas organofosforados: clorpirifos, diazinon, disulfotión, metil paratión, malatión, profenofos, y etión, en muestras de: papa, cebolla, tomate, manzana, fresas y uvas; con el fin de conocer los niveles residuales de estos plaguicidas en vegetales producidos y consumidos en Colombia, mediante la implementación de un método multiresiduo con posterior análisis de muestras adquiridas en el mercado local de Bucaramanga, Colombia. Se observó que el total de las muestras analizadas (35), contiene residuos de más de dos plaguicidas organofosforados (el 6 % de las muestras contiene residuos de 2 plaguicidas, el 17 % de 3, el 20 % de 4, el 46% de 5 y el 11 % de 6); además para el plaguicida profenofos se excede el LMR (Límite Máximo Residual) en más del 50 % de los casos.

Sánchez O. (2008); evaluó los Riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo de arroz en el parque natural de la albufera de Valencia. (España) Para ello determinó la PEC (Predicted Environmental Concentrations) realizando análisis cromatográficos de fungicidas azólicos (procloraz, tebuconazol, triclozazol, propiconazol y carbendazima) en muestras de agua del Lago; y estableció los valores PNEC (Predicted Non Effect Concentrations) mediante ensayos de toxicidad en *Artemia franciscana* y *Tramnocephalus platyurus*. Encontró que los niveles de contaminación por fungicidas azólicos son inferiores a las concentraciones consideradas tóxicas para los microcrustaceos estudiados, concluyendo que el riesgo ambiental que representan los fungicidas azólicos estudiados es moderado.

Iannacone J. et. al. (2008); evaluaron la Toxicidad del metamidofos bajo dos formulaciones de diferente categoría toxicológica (monofós- ia y tamarón - ib) sobre ocho organismos terrestres no destinatarios, determinando el Riesgo Ecológico mediante el Cociente de Riesgo (CR). Encontraron que la secuencia de mayor a menor cocientes de Riesgo (CR) del metamidofos Ia fue: *Leptomastidea abnormis* > *Copidosoma koehleri*> *Orius insidiosus* > *Porcellio laevis*>

Crhysoperla externa > *Cryptolaemus montrouzieri*. En cambio, para el metamidofos Ib fue: *Leptomastidea abnormis* > *Eisenia foetida* > *Copidosoma koehleri* > *Porcellio laevis* > *Crhysoperla externa* > *Podisus nigrispinus*. Ambas aplicaciones del metamidofos provocaron un efecto de mayor riesgo sobre *L. Abnormis*. Los CR indicaron un alto riesgo ambiental del metamidofos en el ambiente terrestre.

Aquino A., Castro M., (2008); En Análisis de residuo de plaguicida organofosforado (Methamidophos) en muestras de papa de mercados de Lima Metropolitana, realizaron el análisis toxicológico de identificación y cuantificación del residuo de plaguicida organofosforado Methamidophos en 20 muestras de papa en diferentes puestos de venta en el Departamento de Lima. El análisis cualitativo se realizó por cromatografía en capa fina (CCF) y el cuantitativo por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se determinó presencia de Methamidophos en la totalidad de muestras analizadas. De los 10 muestreos realizados en mercados mayoristas: 7 muestreos (70%) exceden el Límite Máximo Residual (LMR) mostrando una concentración máxima de 2,7055 ppm de Methamidophos. De los 10 muestreos realizados en mercados minoristas: 2 muestreos (20%) exceden el LMR mostrando una concentración máxima de 0,1753 ppm de Methamidophos. Se concluyó que dichas concentraciones exceden el LMR establecido por el *Codex Alimentarius* (LMR = 0,05 ppm).

Piola L. (2011); en estudios sobre Ensayos ecotóxicológicos para la evaluación del impacto de los plaguicidas glifosfato y clorpirifos en la estructura y función de los suelos agrícolas de Argentina. *Eisenia andrei* fue utilizado en las pruebas de toxicidad con diferentes biomarcadores de genotoxicidad como rojo neutro y Cometa, y marcadores de ecotoxicidad como reproducción y evasión. Los biomarcadores reflejaron un estrés tóxico producido por los plaguicidas a

concentraciones donde no se observó mortalidad, indicando su utilidad para la detección temprana de efectos adversos de agroquímicos sobre las poblaciones.

Aldás A. M. (2012); En Uso de insecticidas en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*), por los socios de la corporación de asociaciones agropecuarias del canton QUERO “COAGRO-Q”. recopila información a través de encuestas aplicadas a agricultores y almacenistas, para determinar el tipo de insecticidas utilizados con mayor frecuencia en el cultivo de papa, considerando su grado de toxicidad. Los resultados muestran que, con respecto al significado del color de la etiqueta del insecticida, se concluye que el 53% de los encuestados sabe lo que representa según el grado de toxicidad. Acerca del manejo de los residuos y envases de los insecticidas, el 32% entierra estos residuos, el 28% los quema, el 25% los bota en el terreno, el 10% los bota en la quebrada y el 5% no tiene ninguna respuesta.

Muñiz, G. (2012): realizó un estudio sobre la valoración toxicológica de plaguicidas en papa cultivada en Chinchero (Cusco) y Andahuaylas (Apurímac). Determinó la presencia de plaguicidas residuales, entre ellos Metamidafos, Metalaxyl, Captan, Tebuconazol, y Folpet en concentraciones por encima de los límites máximos residuales. Mediante biomarcadores de genotoxicidad de micronúcleos y ensayo cometa evaluó el efecto genotóxico de estos plaguicidas.

Tecuapetla M.G. (2014); en Riesgo ecotoxicológico por la aplicación de agroquímicos en el cultivo de gerbera en invernadero mediante el coeficiente de impacto ambiental (CIA), para suelo y agua-MEXICO, el efecto tóxico fue determinado con bioensayos en *Eisenia foetida* y *Lactuca sativa* para suelo, y *Daphnia pulex* y *Selenastrum capricornutum* para agua. Encontró que el agua y suelo (dentro y fuera de los invernaderos) resultaron tóxicos para los organismos de prueba, y que el invernadero con mayor valor de riesgo ecotoxicológico no era en el que se aplicaba mayor cantidad de plaguicidas, pero si el que empleaba plaguicidas más tóxicos. Demostró que

hay movilidad de plaguicidas entre compartimentos ambientales (suelo, agua y aire) y que el riesgo ecotoxicológico no solo depende del número de compuestos aplicados, sino también de su toxicidad y persistencia en el ambiente.

Benítez et al. (2015) evaluaron en la cáscara e interior de la papa (*Solanum tuberosum* L.) residuos de plaguicidas colectadas en una región agrícola del estado Mérida, Venezuela, reportaron que en la cáscara se detectaron ocho plaguicidas, metamidofos, clorpirifos, diazinon, dimetoato, carbofuran, mancozeb, metomilo y metribuzin, con valores por encima del límite máximo residual (LMR) establecidos por el *Codex Alimentarius*. En la parte interna del tubérculo, detectaron residuos de cinco plaguicidas considerados potentes neurotóxicos y disruptores endocrinos: metamidofos, clorpirifos, diazinon, mancozeb y carbofuran todos por encima del LMR

Quispe C. L. E. (2017), determinó el Riesgo exotoxicológico y genotóxico de plaguicidas utilizados en cultivo de papa en Chinchero-Cusco, concluyendo que en las muestras de suelo los plaguicidas organofosforados representan un riesgo ecotoxicológico moderado para el ambiente y su flora y fauna asociadas con un cociente de riesgo mayor a 1 ($CR > 1$) y los plaguicidas evaluados no representan riesgo genotóxico para el ambiente ni para los organismos vivos asociados.

Peña C., K (2018) determinó la Evaluación de riesgo ambiental de los pesticidas Metamidofos, Alfa-cipermetrina y su Mezcla en *Eisenia andrei* reporta que el análisis de unidades tóxicas (UT) estableció que existe un comportamiento sinérgico ($UT \text{ mixta} > UT \text{ individual}$). Para la evaluación de riesgo ambiental se establecieron tres escenarios utilizando plaguicidas metamidofos, alfacipermetrina y la mezcla de ambos en un periodo de exposición de 7 y 14 días en la lombriz *Eisenia andrei*, evaluó el coeficiente de riesgo (CR) como ratio PEC/DL50 y ratio PEC/PNEC , concluyendo que el Metamidofos evidenció un mayor efecto tóxico con respecto a

Alfa-cipermetrina y la exposición mixta demostró un efecto de mayor riesgo que la exposición individual.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. La Papa Cultivada

La papa (*Solanum tuberosum*) es uno de los principales alimentos que se consumen a nivel mundial. El Perú ha sido reconocido como un centro de origen de la papa, con una antigüedad aproximada de 7000 años. Este alimento posee una gran versatilidad a nivel ecológico y económico, razón por la cual, es cultivado masivamente desde hace muchos años e integra la canasta básica de los peruanos (MINAG, 2011).

La papa es un cultivo de clima templado, la mejor producción se obtiene en el rango de 18° - 20° C. en promedio 120 días. La siembra se realiza a partir de tubérculos semilla. Durante la emergencia se observan las primeras hojas del brote por encima de la tierra; posteriormente, se desarrollan ramas laterales que nacen del tallo central, para el desarrollo del follaje en la porción aérea y el desarrollo de rizomas que engrosarán en su porción distal para tuberizar, los últimos brotes en aparecer son los florales, la maduración del tubérculo se intuye a partir del amarillamiento del follaje, el cual se cosecha primero para facilitar la adhesión de la cáscara, por último, se cosecha el tubérculo (Yzarra & López, 2011).

Las campañas agrícolas en el Perú son tres y varían en función del nivel del mar, en la costa (0 a 500 msnm) y la región media (500 a 3000 msnm) el ciclo productivo se realiza en la ausencia de lluvia compensada por la humedad relativa alta y el riego respectivamente, mientras en la zona alta (3000 a 4000 msnm) depende principalmente de la época de lluvias (Egúsquiza y Apaza, 2001).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) señala que la invasión de malezas, las enfermedades de las plantas y los insectos, provocan la pérdida de entre 30 y 35% de las cosechas, sin el uso de plaguicidas las pérdidas serían mayores. Sin embargo, debido al uso de agroquímicos todos los años resultan intoxicados alrededor de 25 millones de trabajadores agrícolas, de los cuales mueren unos 20 000. Esto,

sin considerar los errores de diagnóstico, especialmente cuando los casos de envenenamiento, no se comunican a las autoridades o no se registran (MINAG, 2011).

El Programa Nacional de Papa en el Perú inició sus trabajos de investigación a partir del año 1945, desarrollando variedades con mejor rendimiento y resistencia a plagas y enfermedades. A partir del año 1971, fecha en que el Centro Internacional de la Papa (CIP) se establece en el Perú, se incrementaron las investigaciones socioeconómicas, de procesamiento, precocidad y manejo integrado de plagas y enfermedades. En estos dos períodos se obtuvieron para el Perú más de 30 variedades modernas que destacaron por su rendimiento, precocidad y resistencia a plagas y enfermedades; igualmente se comenzó a difundir la potencialidad genética de las papas nativas y otras raíces y tuberosas andinas (olluco, mashua, oca, arracacha y yacón); algunas de las cuales aún están en uso por su capacidad de estabilidad genética, otras han degenerado reduciendo su capacidad de rendimiento e incluso algunas han desaparecido (INTI-CIPA, Porcón-SIPA, Renovación, Huaytapallana, etc.) (Egúsqiza, 2008).

Egúsqiza asimismo refiere respecto a las variedades nativas se sabe que estas fueron culturizadas por los primeros pobladores hace más de 1500 años A.C. y se cuenta con más de 3 600 cultivares de diferente color, tanto de la cáscara como de la parte comestible, de formas increíbles y caprichosas. Entre las variedades nativas más importantes se tiene: Ccompis, Peruanita, Huayro, Lomos o Mactillo, Yana, Surimana. Durante mucho tiempo el principal objetivo de los investigadores en papa ha sido el de seleccionar papas de mayor productividad a través de cruzamientos dirigidos, así como producir las variedades comerciales. Dentro de las variedades de papa comercializadas en el Perú destacan Yungay (1970), Revolución (La molina 1973), Valicha (Estación experimental Andenes Cusco 1981), CICA (UNSAAC, Cusco, 1982), Chaska (E. E. Andenes Cusco, 1982) Canchán (INIA E.E. Canchán Huánuco 1990).

Las papas, pueden ser susceptibles a plagas y enfermedades, entre las principales se puede citar: Gorgojo de los Andes (*Prennotrypes solaniperda* y *P. latithorax*), Polilla de la papa

(*Phthorimea operculella*, *Scrobipalpula absoluta*), Pulga saltona (*Eppitrix spp.*) Mosca minadora (*Frankiniella tuberosi*). Entre las principales enfermedades se tiene: Mancha (*Phytophthora infestans*) Verruga (*Synchytrium endobioticum*), Nematodos y Virus de diferentes tipos entre otras.

El distrito de Chinchero-Cusco, posee características óptimas para el cultivo de *Solanum tuberosum*, “el 55% de agricultores del lugar se dedica al cultivo de papa” (Valcárcel citado por Quispe, 2017), estos cultivos referidos, son continuamente afectados por diversas plagas que ocasionan el desmedro de la producción, pudiendo afectarla gravemente o destruirla por completo, por otro lado, al ser la papa, de forma mayoritaria, el único sustento para las familias de los agricultores y dada la alta demanda de este tubérculo en el mercado, estos se ven obligados a hacer uso de plaguicidas para maximizar la producción, sin embargo al no tomar en cuenta, las propiedades toxicológicas de estos agentes, ponen en riesgo su salud y la de la comunidad en pleno a nivel local y regional.

2.2.2. Plaguicidas

La mayor parte de los plaguicidas son productos químicos que se utilizan en la agricultura para combatir plagas, malas hierbas o enfermedades de las plantas. Estos productos pueden obtenerse por extracción de las plantas o ser sintéticos.

Según la FAO (1986), un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del

crecimiento de las plantas, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes y después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte.

En Perú, el sector productivo campesino, históricamente ha abastecido los mercados locales, aunque desde hace algunos años también exporta productos “no tradicionales”. Sin embargo, la lógica productiva campesina parte de la producción agropecuaria para el autoconsumo, implicando una alta dependencia al acceso a la tierra, como su principal medio de producción y sin contar con apoyo técnico y crediticio. Los agricultores sufren un alza en los costos de producción, por la dependencia de fertilizantes e insecticidas y la baja productividad, incidiendo en la migración laboral. Además, la contaminación de los productos deteriora su demanda en los mercados. En conclusión, el sector campesino subsidia la producción agrícola con el valor de la mano de obra familiar, la renta de la tierra y su degradación.

2.2.2.1. Clasificación de los plaguicidas.

La clasificación de los plaguicidas se puede hacer en función de diferentes criterios como su campo de acción, grado de penetración, estabilidad, toxicidad, semejanza química, etc.

Una clasificación bastante extendida en su uso diario es la generada atendiendo al objetivo o campo de acción al que están destinados. Propuesta por Fernández, Pujol y Maher (2012): Considerando la plaga que controlan, pueden clasificarse en insecticidas, acaricidas, bactericidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, nematocidas, molusquicidas, avicias, alguicidas.

Por su modo de acción, pueden ser sistémicos o de contacto; los primeros se aplican sobre una parte de la planta, ingresan a ellas y a través del follaje llegan a otras partes que no fueron tratadas.

Teniendo en cuenta su toxicidad, la OMS agrupa en cuatro clases; IA (extremadamente tóxicos), IB (altamente tóxicos), II (moderadamente tóxicos), III (ligeramente tóxicos), IV (Precaución). Esta clasificación es la que adoptan gran parte de los países de América Latina. De acuerdo con su estructura química, se agrupa en carbamatos, clorados, fosforados, compuestos inorgánicos, piretroides, tiocarbamatos, derivados de la urea, arsenicales, bipiridilos y otros.

Para la presente investigación, se enfatiza la clasificación de la OMS, en función de su toxicidad: The WHO recommended classification of pesticides by hazard, (2004), atendiendo a dos posibles vías de contacto (oral y tópica) y a la formulación del producto (sólido o líquido), tal como muestra la Tabla 1.

Tabla 1

Clasificación de Plaguicidas recomendada por la OMS

Clasificación toxicológica de los plaguicidas				
Color etiqueta	Clase según los riesgos		Clasificación del peligro	Ejemplos
	Clase Ia:	Sumamente peligrosos	Muy tóxico	Paratión, dieldrin, metamidofos
	Clase Ib:	Altamente peligrosos	Tóxico	Eldrin, diclorvos, endosulfan
	Clase II:	Moderadamente peligrosos	Nocivo	DDT, Clordano, heptacloro
	Clase III: Poco peligrosos		Cuidado	
	Clase IV: Sin peligro		Cuidado	

Nota: Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación (OMS, 2019).

A. Organoclorados (OC)

Los plaguicidas organoclorados comprenden un grupo de compuestos orgánicos de síntesis derivados de hidrocarburos complejos, en los que uno o más hidrógenos son sustituidos por cloro,

donde los enlaces de carbono-cloro son muy estables. Sus propiedades son: reducida volatilidad, alta estabilidad química y alta solubilidad en lípidos y solventes orgánicos, resistencia a la biodegradación, por ello una lenta biotransformación y degradación en el medio ambiente (Álvarez y Cruz, 1989 citado en Pauta, 2014). Características que han provocado su prohibición en numerosos países ya que plantean al medio ambiente: persistencia, bioconcentración y biomagnificación en la cadena trófica (Pauta Calle, 2014), representando un potencial de riesgo ecotoxicológico. Entre los OC más conocidos se tiene: endosulfan, clorotalonil, clordano, heptacloro, aldrín, dieldrín, endrín, DDT, hexaclorobenceno, entre otros. Ramirez y Lacasaña, (2001).

B. Organofosforados (OF)

Son esterés o amidas derivadas del ácido fosfórico, son inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa que se encuentran en las células nerviosas, cuya desactivación paraliza el sistema nervioso. Son compuestos poco volátiles, muchos de ellos experimentan fotólisis directa e indirecta en la atmósfera, son hidrolizables y biodegradables. En comparación a los plaguicidas organoclorados tienen un espectro de acción más estrecho, reduciendo así la destrucción de otros organismos (insectos) que pueden ser beneficiosos. Fácil descomposición a productos no tóxicos, metabolismo relativamente rápido en organismos vertebrados y ausencia de acumulación en los mismos. Su toxicidad, relativamente alta para los vertebrados y seres humanos, y su persistencia no tan baja como se creyó, constituye una importante desventaja (Sánchez Martín & Sánchez Camazano, 1984)

Asimismo, se ha descrito que tienen propiedades alquilantes lo cual desde el punto de vista de la mutagénesis es de suma importancia, puesto que actúan directamente sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN) produciendo genotoxicidad, añadiendo grupos alquilo principalmente etilo y metilo a las bases nitrogenadas que tienen grupos nucleofílicos (Martínez y Gómez, 2007). En el suelo la biodegradación es más activa a medida que

aumenta la materia orgánica, Algunos estudios demuestran que estos pueden adsorberse en el espacio entre capas de algunos minerales del suelo, como la montmorillonita (mineral de arcilla) (Pauta, 2014). Entre los compuestos organofosforados se tiene: malatión, metamidofos, diazinón, diclorvos, clorpirifos, paratión, metilparatión, entre otros (Ramírez & Lacasaña, 2001)

2.2.3. Metabolismo y Degradación de los Plaguicidas

De acuerdo a Fisher (1991) la permanencia de un plaguicida en el ambiente está determinado por su resistencia a la degradación, proceso que obedece a diversos factores, tales como, la oxidación o hidrólisis por la que se forman nuevas sustancias, asimismo los plaguicidas pueden ser degradados por efecto de la luz solar, o por la acción de microorganismos, presentes en suelo y sedimentos. Así entonces, La degradación responde a diversas propiedades entre las cuales se encuentran: solubilidad, volatilidad, sensibilidad a los cambios de pH, a la luz, a microorganismos, y facilidad de evaporación.

Por otra parte, Los plaguicidas se pueden degradar a través del metabolismo cuando éstos, entran en contacto con los animales y las plantas y cuando los productos son resistentes a la degradación, pueden permanecer en el ambiente por largos períodos de tiempo, aumentando la capacidad de movimiento (Matsumura, 1975).

En el interior de los organismos vivos, los plaguicidas se transforman metabólicamente en uno o más productos diferentes. Los metabolitos pueden ser más o menos tóxicos que los compuestos originales. Por otra parte, también existen algunos plaguicidas que solo son efectivos después que se han metabolizado. La toxicidad de los plaguicidas y sus metabolitos fundamentalmente depende de la estructura química del compuesto activo y de que el organismo pueda metabolizar el plaguicida en metabolitos menos tóxicos antes de que la actividad tóxica sea completa o irreversible (Baradon & Frixione, 1982).

La acción tóxica de cualquier compuesto no solamente depende de la dosis y de las enzimas de metabolización, sino también de la capacidad del compuesto o de sus metabolitos de unirse a lugares específicos y poder así ejercer su acción, debido a su lipofilidad la mayoría de xenobióticos, atraviesan la membrana con gran facilidad, pero en muchos casos su transporte puede estar condicionado por el pH (Baradon & Frixione, 1982).

La absorción de los plaguicidas se da por tres rutas principales que son la oral, la respiratoria y la dérmica, pueden ser absorbidos muy específicamente por una sola vía, o de manera más general, por todas las vías. La mayoría de las exposiciones laborales a plaguicidas son dérmicas y respiratorias. Muchos productos químicos, plaguicidas, determinados fármacos y productos de limpieza del hogar, son absorbidos muy eficientemente por la piel, convirtiéndose esta en una vía de entrada muy importante, especialmente para los insecticidas, ya que muchos de ellos son tóxicos por contacto (Pastor, 2002).

2.2.4. Movimiento y Destino de los Plaguicidas en el Ambiente

El amplio uso y la disposición de los plaguicidas por parte de los agricultores, provoca que estos productos, estén ampliamente distribuidos y solo un pequeño porcentaje de los plaguicidas aplicados, generalmente alcanza su objetivo en el aire, en los sedimentos, en la superficie del agua, en los alimentos y en organismos sobre los que no se tenía ninguna intención de hacer llegar el plaguicida, entre ellos el hombre (Pastor, 2002).

Se establece que cuando se aplica un plaguicida a un cultivo, solo aproximadamente el 1% alcanza el organismo “blanco”, mientras que, el 30 % llega al suelo, el 25 % es retenido en el follaje y el 44 % restante es exportado a la atmósfera y a los sistemas acuáticos por escorrentía y lixiviación (Brady y Weil, 1996 citado en Bruno, 2016). La contaminación de los diferentes compartimentos ambientales (agua, suelo y aire) por plaguicidas es el problema más grave de la agricultura actual. El problema se agrava cuando el plaguicida es transportado desde el suelo hacia el aire, agua o vegetación/animales, pudiendo entrar en contacto con una amplia gama de organismos, incluyendo los seres humanos (Sánchez O. , 2008).

El movimiento de los plaguicidas dependerá de la manera como se produce la liberación de los plaguicidas al ambiente. La distribución inicial viene condicionada por la cantidad de producto, el método de aplicación, la frecuencia y la duración de aplicación, así como el lugar de aplicación y las condiciones ambientales durante la aplicación. También son factores importantes, el tipo y densidad de vegetación, la topografía del terreno, las condiciones del suelo y la

proximidad de agua. Estos factores determinan la cantidad de plaguicida que se distribuirá en aire, suelo, agua, plantas y animales. Los plaguicidas con el tiempo, pueden redistribuirse en el lugar de aplicación, moverse del lugar (aguas subterráneas, atmósfera, etc.), degradarse o persistir. Por pulverización los plaguicidas se pueden mover a través del aire pudiendo acabar en lugares muy lejanos, tanto en el suelo como en el agua. Los plaguicidas aplicados directamente sobre el suelo, pueden ser filtrados a capas basales, pasar a las aguas subterráneas o reabsorberse posteriormente por otras plantas, todas estas posibilidades sugieren una alta complejidad en el movimiento de los plaguicidas es muy complejo (Matsumura, 1975). Así, por ejemplo, en lugares en donde nunca han sido utilizados, se encuentra DDT.

Debido al continuo y elevado movimiento de los plaguicidas, algunos de ellos pueden llegar a lugares no deseados, pudiendo afectar a los depredadores naturales de las plagas, con lo que se provoca un daño más elevado, en lugar de producir un beneficio.

2.2.5. Técnicas Analíticas para la Detección de Plaguicidas

Las técnicas de análisis de contaminantes orgánicos en matrices medioambientales tienen dos etapas fundamentales de similar importancia: una de tratamiento de muestra y otra de análisis. La etapa de preparación de muestra es muy crítica en matrices medioambientales, porque suelen ser muy complejas con contenidos muy bajos de los analitos. En cuanto a la etapa de análisis de contaminantes orgánicos fundamentalmente se emplean las técnicas cromatográficas, destacando las aplicaciones de la cromatografía de gases y de líquidos (García & Pérez, 2012).

A. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

Los estudios medioambientales emplean este método por su amplia versatilidad en la detección de la mayor parte de los contaminantes analizados por cromatografía de líquidos. Sin embargo, presenta una limitada sensibilidad y selectividad cuando las muestras

medioambientales son complejas y los contaminantes se encuentran a niveles traza (García & Pérez, 2012).

B. Cromatografía de gases (GC)

Es la técnica cromatográfica más extensamente aplicada y con mayor versatilidad en el análisis de contaminantes ambientales, sin embargo, su aplicación se ve altamente limitada por la ausencia de volatilidad de muchos compuestos y/o la inestabilidad térmica que presenten (García & Pérez, 2012)

“La mayoría de los detectores GC son detectores de ionización (FID, NPD, FPD, MSD), su respuesta es sensible al cambio de masa del analito” (Stachenko, & Martínez, 2009).

2.2.6. Regulación Normativa Aplicable

a) Decreto Supremo N° 0037-91-AG: Se establece la prohibición del internamiento del registro de Plaguicidas Organoclorados (Aldrín, Endrín, Dieldrín, BHC/HCH, Canfeclor/Toxafeno, Heptacloro), así como la prohibición del uso del DDT para uso agrícola.

b) Decreto Ley N° 25902: Ley Orgánica del Ministerio de Agricultura, se creó el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) de fecha 29 de noviembre de 1992, como encargado de desarrollar y promover la participación de la actividad privada para la ejecución de los planes y programas de prevención, control y erradicación de plagas y enfermedades que inciden con mayor significación socioeconómica en la actividad agraria; siendo a su vez , el ente responsable de cautelar la seguridad sanitaria del agro nacional (Art. 17).

c) Decreto Supremo N.° 16-2000-AG: Aprueba el Reglamento para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola, (Resolución Ministerial N° 476-2000-AG, Resolución Ministerial N° 639-2000-AG y Resolución Ministerial N° 1216-2001-AG, disponiendo en su

artículo 53° que el SENASA publicará en el mes de cada año, la relación de plaguicidas agrícolas con registro vigente y la relación de los plaguicidas restringidos, prohibidos y cancelados.

d) Evaluación de riesgos ambientales: Plaguicidas en la actividad agrícola (MINSa, 2001): establece el método de evaluación de riesgos para la gestión de plaguicidas. El SENASA, a través de la Subdirección de Insumos Agrícolas participa en reuniones internacionales sobre temas relacionados a plaguicidas como son: Convenio de Basilea (sobre movimiento trans-fronterizo de sustancias tóxicas), Convenio de Estocolmo (sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes), Convenio de Rotterdam (sobre el procedimiento de consentimiento fundamentado previo aplicable a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos objeto de comercio internacional), Protocolo de Montreal (sobre las sustancias agotadoras de la capa de ozono) y Codex Alimentarius (relativo a inocuidad y calidad de los alimentos). El SENASA se constituye en punto focal de los Convenios de Estocolmo y Rotterdam, conjuntamente con la DIGESA-MINSA

e) Decreto Supremo N° 058-2005-RE: Se ratifica el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes.

f) Decreto Supremo N° 067-2005-RE: Ratifica Convenio de Róterdam para la Aplicación del procedimiento de Consentimiento Fundamentado Previo a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos objeto de comercio internacional.

g) Decreto Legislativo N° 1062 (2008): Se aprueba la Ley de Inocuidad de los Alimentos; Otorga al SENASA, competencia exclusiva en el aspecto técnico, normativo y de vigilancia en materia de inocuidad de los alimentos agropecuarios de producción y procesamiento primario destinados al consumo humano; así como en piensos, de producción nacional o extranjera;

contribuyendo con ello a la protección de la salud de los consumidores y promoviendo además a la competitividad de la agricultura nacional, a través de la inocuidad de la producción agropecuaria.

h) Decreto Legislativo N° 1059 (2008) Ley General de Sanidad Agraria: Tiene entre sus objetivos regular la producción, comercialización, uso y disposición final de insumos agrarios, a fin de fomentar la competitividad de la agricultura nacional y promover el manejo integrado de plagas para aseguramiento de la producción agropecuaria nacional, según estándares de competitividad y según lo dispuesto en las políticas del estado.

i) Resolución Ministerial N° 1006-2016/MINSA (2016): Norma Sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de plaguicidas de uso agrícola en alimentos de consumo humano. Uno de los objetivos de esta norma es establecer el patrón de referencia para el control sanitario que realiza la autoridad competente en la vigilancia o monitoreo de peligros químicos en los alimentos.

j) Decreto Supremo N° 004-2011-AG Reglamento de inocuidad alimentaria: Tiene por objeto establecer disposiciones para garantizar la inocuidad de los alimentos agropecuarios primarios, así como de los piensos, con el propósito de proteger la vida y la salud de las personas, reconociendo y asegurando los derechos e intereses de los consumidores y promoviendo la competitividad de la agricultura nacional.

k) Decreto Supremo N° 001-2015-MINAGRI Reglamento del Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola: Tiene por objeto crear el Sistema Nacional de Plaguicidas de Uso Agrícola con la finalidad de prevenir y proteger la salud humana y el ambiente, garantizar la eficacia biológica de los productos, así como orientar su uso y manejo adecuado mediante la adopción de buenas prácticas agrícolas en todas las actividades del ciclo de vida de los plaguicidas.

l) Decreto Supremo N°002-2013-MINAM (2013): norma los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo, señalando como suelo contaminado a aquel cuyas características químicas han sido alteradas negativamente por la presencia de sustancias contaminantes depositadas por la actividad humana. Este D.S. contempla el ECA para ciertos plaguicidas OC (Aldrín, Endrín, DDT y Heptacloro).

m) Decreto Supremo. N° 002-2013-MINAM y Decreto Supremo N°002-2014-MINAM (Disposiciones complementarias para la aplicación de los Estándares de Calidad Ambiental - ECA para Suelo); se publica la “Guía para la Elaboración de Estudios de Evaluación de Riesgos a la Salud y el Ambiente (ERSA)”, como herramienta práctica para la Evaluación de Riesgos. Estos se basan en los datos y resultados obtenidos en la fase de identificación y caracterización de un sitio contaminado con el fin de entender las relaciones y causalidades entre la presencia de los contaminantes, las distintas rutas y vías de exposición y los efectos adversos observados en el ambiente o los efectos potenciales que puedan presentarse.

n) Resolución Directoral 0022-2020-MINAGRI-SENASA-DIAIA (2020): señala que partir del 30 de noviembre 2020, se prohibió la importación y el registro de nuevos plaguicidas de uso agrícola que contengan el ingrediente activo Metamidafos, no podrán utilizarse plaguicidas con este ingrediente activo, ni tampoco podrán fabricarse, formularse, envasarse, distribuirse, comercializarse ni almacenarse. Las medidas aprobadas están acorde a los informes técnicos de las tres instituciones que participan en la evaluación de plaguicidas, entre ellos la Dirección General de Asuntos Ambientales Agrarios del MINAGRI, el SENASA y la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria - DIGESA del Ministerio de Salud.

2.2.7. Exposición por Residuos de Plaguicidas en Alimentos

La naturaleza toxica de los plaguicidas, pueden afectar negativamente a la salud de los productores, los trabajadores del campo, los pobladores rurales y los consumidores, así como contaminar el ambiente y a todos los organismos que habitan en él, por exposiciones indirectas de cantidades residuales de productos fitosanitarios provenientes de tratamientos requeridos por la producción agraria. Exposición que ha sido evaluada por la FAO, la OMS y las autoridades comunitarias por cada estado miembro, administrados por grupos internacionales de expertos sobre peligros químicos (JECFA y JMPR) que presentan evaluaciones de riesgos que sirven de base para las normas del Codex y son también utilizadas por los gestores y evaluadores de riesgos en los distintos países. Mediante estos organismos, se han establecido límites máximos de residuos (LMR) para varias combinaciones comerciales de productos fitosanitarios y existen programas nacionales y programas comunitarios coordinados para el control de los residuos de productos fitosanitarios en la alimentación.

Los plaguicidas además de la bioacumulación que causan en la cadena alimenticia, presentan otras formas de contaminación de los alimentos por el uso excesivo en el sector agropecuario, también se puede observar contaminación durante el almacenamiento, transporte, el expendio o la preparación de los alimentos y la recolección de los productos agrícolas sin esperar el intervalo de seguridad o período de carencia de la contaminación de los suelos y fuentes de agua, podría decirse entonces, que uno de los principales problemas a los que se enfrenta la población mundial es la presencia de residuos de plaguicidas en los productos agrícolas de consumo humano (Murcia y Stashenko, 2009) Esta preocupación se pone de manifiesto en la normativa establecida por las organizaciones multinacionales (FAO y OMS, 2005; OIT, 2010; EFSA-UE, 2012; US-EPA, 2012), con el fin de garantizar la salud de los trabajadores agrícolas y consumidores finales de los productos alimenticios, así como la protección del medio ambiente (Benitez& otros. 2015)

Los residuos de plaguicidas pueden permanecer en los alimentos por variados períodos, los altos niveles de residuos de plaguicidas en el consumo de alimentos es otra forma de exposición a los plaguicidas. (FAO/OMS, 2008). El hombre puede ingerir plaguicidas a través de la cadena alimenticia (forraje-ganado- hombre), cuando el primero está contaminado; esto ocurre con los tratamientos con insecticidas organoclorados en plantas forrajeras, que se acumulan al ser consumidas, en las grasas de los animales, pasando al ser humano cuando éste se alimenta de la carne.

- Límite máximo de residuos (LMR)

El problema de la presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos está tomando una importancia cada vez mayor, hasta tal punto que, actualmente, se ha convertido en una constante preocupación para los consumidores. Donde ha tenido mayor importancia es en el comercio internacional, dado que ciertos países son especialmente severos con los contenidos en residuos de determinados plaguicidas y disponen de medios para realizar los análisis pertinentes (FAO/OMS, 1995).

El *Codex Alimentarius* (FAO/OMS, 2006) entiende por residuo de plaguicida o plaguicida a “toda/s sustancia/s presente/s en un producto alimenticio destinado al hombre o a los animales como consecuencia de la utilización de un plaguicida”. Engloba, por tanto, no solo los restos del plaguicida en su forma molecular original, sino también todos sus metabolitos, productos de reacción e impurezas con significación toxicológica. También define el límite máximo de residuos (LMR) como “la concentración máxima de un plaguicida (expresada en mg/kg) para que se permita legalmente su uso, en la superficie o en la parte interna de los productos alimenticios para consumo humano y de piensos”. El establecimiento de los LMR se basa en datos de buenas prácticas agrícolas que tienen por objetivo lograr que los alimentos derivados de productos básicos que se ajustan a los respectivos LMR sean, desde un punto de vista toxicológico, aceptables. Los objetivos fundamentales del establecimiento de los LMR son: controlar el uso de productos fitosanitarios, proteger al consumidor y facilitar el comercio. Son establecidos en base a

una compleja documentación que implica un estudio de las propiedades de los compuestos, análisis toxicológicos, estudios de metabolismo, métodos de análisis químico, riesgo al consumidor, etc. que es ampliamente evaluada antes de fijar el resultado final (FAO/ OMS, 2006).

2.2.7.1. Evaluación de riesgo toxicológico alimentario.

La evaluación de riesgo (ER), es un planteamiento sistemático y disciplinado para tomar decisiones sobre la inocuidad de los alimentos y constituye un instrumento poderoso para la realización de análisis de base científica, para la búsqueda de soluciones sólidas y coherentes a los problemas de inocuidad alimentaria. Estas evaluaciones pueden respaldar y mejorar la elaboración de normas, así como también, puede utilizarse para obtener información y pruebas sobre el nivel de riesgo de un determinado contaminante en la cadena alimentaria, lo que ayudaría a los gobiernos a decidir qué medidas deberían adoptar como respuesta (por ejemplo, introducir o revisar un límite máximo de dicho contaminante, revisar los requisitos de etiquetado, aumentar la frecuencia de las pruebas, ofrecer asesoramiento a un determinado subgrupo de población, retirar un producto del mercado y/o prohibir sus importaciones) (FAO/ OMS, 2006).

El análisis de riesgo representa un proceso estructurado de toma de decisiones con tres componentes estrechamente vinculados: gestión de riesgos, evaluación de riesgos y comunicación de riesgos. Los tres componentes representan partes esenciales y complementarias de la disciplina general y se han definido en el *Codex* de la manera siguiente:

Evaluación de riesgos: “Proceso científico que consiste en cuatro pasos siguientes: i) Identificación de peligros; ii) caracterización de peligros; iii) evaluación de exposición, y iv) caracterización de riesgos” (FAO/ OMS, 2006).

Gestión de riesgos: proceso que analiza las alternativas de políticas en consulta con todas las partes interesadas, considerando la evaluación de riesgos e información relevante para

proteger la salud de los consumidores y para la promoción de prácticas de comercio legítimo, y de ser necesario, seleccionando las opciones de prevención y control que correspondan (FAO/ OMS, 2006).

Comunicación de riesgos: intercambio interactivo de información y opiniones durante todo el proceso de análisis riesgos con respecto a factores relacionados con los riesgos y percepciones de riesgos entre evaluadores, administradores de riesgos, consumidores, industria, comunidad académica y otras partes interesadas, incluyendo la explicación de los hallazgos de la evaluación de riesgos y la base de las decisiones de administración de riesgos. En el plano internacional, los comités del Codex que recomiendan normas sobre la inocuidad de los alimentos desempeñan funciones de gestión de riesgos en el sentido de que organizan y dirigen el proceso de toma de decisiones, valoran los resultados de las evaluaciones de riesgos y otros factores legítimos, como la viabilidad de las y los intereses de los miembros del *Codex*, y recomiendan normas para proteger la salud pública y garantizar prácticas leales en el comercio de alimentos (FAO/OMS, 2006). Perú sigue los valores admisibles establecidos en el *Codex Alimentarius* (Res. SENASA 608/2012).

2.2.7.2. Componentes del análisis de riesgo para los peligros químicos.

La evaluación de riesgos ha surgido fundamentalmente como consecuencia de la necesidad de tomar decisiones para proteger la salud en un contexto de incertidumbre científica. Se describe como la determinación de los posibles efectos adversos para la vida y la salud resultantes de la exposición a peligros durante un determinado período de tiempo ((FAO/WHO, 1998)

Entre los peligros químicos en los alimentos se incluyen los aditivos alimentarios, los contaminantes ambientales –como el mercurio y las dioxinas, los tóxicos naturales en los alimentos como las aflatoxinas en los cacahuetes/maníes y los glicoalcaloides en las papas, los residuos de plaguicidas, la acrilamida y medicamentos veterinarios (FAO/WHO, 1998)

La evaluación de riesgos de los peligros químicos es algo distinta de la correspondiente a los peligros biológicos, normalmente se prevén efectos negativos para la salud en caso de

exposición a largo plazo a sustancias químicas, mientras que los peligros biológicos normalmente se evalúan con relación a una exposición única y a un riesgo agudo para la salud (FAO/WHO, 1998)

1. Identificación de peligros: La identificación de los peligros permite describir los efectos negativos de la sustancia, la posibilidad de provocar efectos nocivos como propiedad intrínseca de la sustancia química, el tipo (grupo de edad, género, etc.) y el alcance de la población que puede estar en situación de riesgo (ESdat, 2016).
2. Caracterización de los peligros: La caracterización de los peligros describe y evalúa las relaciones dosis-respuesta de los efectos nocivos más críticos recogidos en los estudios disponibles. En los casos en que el efecto tóxico es resultado de un mecanismo que tiene un umbral, la caracterización del riesgo normalmente da lugar al establecimiento de un nivel inocuo de ingesta, es decir, una ingesta diaria aceptable (IDA) o tolerable (IDT) de dichos contaminantes. Así puede ocurrir cuando se evalúa que una sustancia sea de una toxicidad muy baja, de acuerdo con los datos biológicos y toxicológicos, y la ingesta diaria total de la sustancia resultante de los niveles permitidos en los alimentos para conseguir la función deseada no represente un peligro (ESdat,2016).
 - Evaluación de la exposición: Consiste en asociar los datos del consumo de alimentos con los datos de la concentración de los contaminantes. Esto incluye la aplicación de cálculos que siguen el consumo habitual durante la vida del individuo (FAO/WHO, 1998). El paso final que es la “caracterización del riesgo” comprara la estimación de la exposición con los valores de guía en un “estado saludable” tales como la Ingesta Diaria Aceptable (IDA), que evalúa el potencial riesgo a la salud del individuo (ESdat, 2016).
 - Ingesta diaria admisible: La ingesta diaria admisible (IDA), es una estimación efectuada por el JECFA acerca de la cantidad de un aditivo alimentario, expresada en relación al peso

corporal, que una persona diariamente puede ingerir durante toda su vida sin correr riesgos apreciables para su salud (hombre medio = 60 kg). La IDA se expresa en miligramos del aditivo por kilogramo de peso corporal. Generalmente, los cálculos se basan en un peso corporal de 60 kilogramos (Informe de la JECFA de 1988, TRS 776 sec. 2.2.3 (FAO/WHO, 1998). Sin embargo, un peso corporal de 50 kilogramos tal vez represente mejor el peso corporal medio de la población en algunos países, sobre todo en países en desarrollo, (FAO/WHO, 1998).

- Ingesta diaria máxima teórica (IDMT): La IDMT sólo da una indicación aproximada de la ingesta de un contaminante alimentario a través de la dieta porque no toma en consideración los hábitos alimentarios de los grupos especiales de la población y se basa en el supuesto de que todos los alimentos poseen un nivel máximo aceptable de contaminante y que las personas ingieren todos los días durante su vida entera los alimentos que lo contiene. Se calcula multiplicando el consumo medio diario per cápita de cada alimento en una determinada región o grupo de alimentos por la dosis máxima de uso establecida en las normas del *Codex* o en la reglamentación nacional (FAO/WHO, 1998)
- Ingesta diaria admisible estimada o experimental (IDAExp): Es la cantidad ingerida por el consumidor medio en un alimento específico y se calcula a partir de su consumo medio presumiendo que se cumplen las Buenas Prácticas Agrícolas en las materias primas o alimento crudo ((OMS, 1997).). La exposición es imprescindible consultar los datos nacionales o regionales de consumo de alimentos. Los datos de otros países con similares hábitos de consumo de alimentos, o datos internacionales, también pueden ser considerados, por ejemplo, la OMS GEMS/Food (Sistema global de monitoreo del medio

ambiente y Programa de contaminación y evaluación de alimentos)
(PNUMA/FAO/OMS,1990)

3. Caracterización de los riesgos. La caracterización del riesgo consiste en definir la relación dosis-respuesta y la determinación para cada químico en consideración por debajo del cual el riesgo para la salud es insignificante (OMS, 1997). Durante la caracterización del riesgo, se integran los resultados procedentes de los tres pasos anteriores para generar una estimación del riesgo. Las estimaciones pueden adoptar diversas formas y, si es posible, debe describirse también la incertidumbre y la variabilidad. El resultado de la evaluación de la exposición se compara con la IDA o la IDMT a fin de determinar si las exposiciones estimadas a las sustancias químicas en los alimentos se encuentran dentro de límites inocuos, pueden utilizarse también en los modelos de evaluación cuantitativa de riesgos (PNUMA/FAO/OMS,1990).

Así pues, no debe llegarse a la conclusión de que los LMR del Codex son inaceptables cuando la IDMT excede a la IDA; de hecho, el cálculo de la IDMT sirve como procedimiento de criba que quizá permita eliminar la necesidad de seguir tomando en consideración la ingesta de residuos de un plaguicida (PNUMA/FAO/OMS,1990)

4. Especificación de la forma de los resultados. Los resultados de la evaluación de riesgos pueden ser cualitativos (no numéricos) o cuantitativos. En la primera los resultados se expresan en forma descriptiva, por ejemplo, indicando si el nivel de riesgo es elevado, medio o bajo y que acciones ulteriores deberían tomarse. En la segunda, las evaluaciones de riesgos cuantitativas, los resultados se expresan en forma numérica y pueden incluir una descripción numérica de la incertidumbre. Las estimaciones numéricas del riesgo pueden adoptar una de estas dos formas (PNUMA/FAO/OMS,1990)
- Estimación puntual, es decir, un valor numérico único que representa, por ejemplo, el riesgo en el supuesto de que se den las condiciones menos favorables.

- Estimaciones de riesgo probabilísticas, que comprenden la variabilidad y la incertidumbre y se presentan en forma de distribución que refleja situaciones más en consonancia con la vida real.
5. Comunicación de los riesgos. Por comunicación de riesgos se entiende “un intercambio interactivo de información y opiniones durante todo el proceso de análisis de riesgos con respecto a factores relacionados con los riesgos y percepciones de riesgos entre evaluadores, administradores de riesgos, consumidores, industria, comunidad académica y otras partes interesadas, incluyendo la explicación de los hallazgos de la evaluación de riesgos y la base de las decisiones de administración de riesgos” (FAO/OMS, 2011).

2.2.8. Exposición por Residuos de Plaguicidas en el Ambiente

La toxicología ambiental es la ciencia que estudia los efectos adversos de los productos químicos y otros agentes creados por el hombre, sobre la estructura y función de los sistemas ecológicos del medio ambiente, siendo el ecosistema y los humanos los principales receptores específicos (Capó, 2007).

Asimismo, incluye el estudio de sustancias químicas, que pueden ser potenciales contaminantes, que afectan a los diferentes compartimentos ambientales (aire, agua y suelo), así como a los alimentos (residuos de plaguicidas). Los resultados son importantes para la toma de decisiones y la gestión ambiental (Capó, 2007).

La Ecotoxicología, estudia los efectos nocivos de sustancias altamente tóxicas (químicas o físicas) presentes en el ambiente sobre organismos vivos, los cuales son parte esencial en los ecosistemas (vegetales, microorganismos, animales y el hombre). En la ecotoxicología interviene la toxicología y la ecología que tiene como objetivo evaluar el riesgo ecológico que se puede presentar por la presencia de sustancias potencialmente tóxicas en un ambiente, reuniendo así la suficiente información para la protección de los ecosistemas. Entre las características que se deben valorar están: la distribución en el ambiente, los patrones de descarga, los efectos en organismos

vivos, la degradación, la actividad biológica, las diversas formas de bioacumulación, así como las características y propiedades de los ecosistemas.

Con esta valoración se determina la probabilidad de ocurrencia de efectos adversos que pueden surgir o están surgiendo en ecosistemas que se encuentran en exposición a sustancias de interés sanitario que producen estrés en los organismos, evaluación que está determinada en dos elementos:

- Exposición de organismos en estudio con agentes contaminantes: interacción entre frecuencia intensidad y respuesta de los organismos frente a sustancias que alteran su ecosistema.
- Características de los efectos producidos por sustancias tóxicas: relación dosis -respuesta entre la sustancia química contaminante y los efectos que produce en el organismo.

Las sustancias ecotóxicas son aquellas que, al ser liberadas en el ambiente, producen un impacto ambiental significativo, de naturaleza reversible o irreversible, debido a procesos conocidos de toxicidad como la persistencia, la bioacumulación, y la residualidad. Por consiguiente, la ecotoxicología no se enfoca a que cierto agente haga desaparecer a la mitad de los individuos de una especie, sino a determinar el impacto ecológico que produce, ya que muchos contaminantes no tienen efectos sobre los organismos individualmente, pero aun así su consecuencia ecológica es digna de tenerse en cuenta (Capó, 2007).

2.2.8.1. Evaluación de Riesgo Toxicológico Ambiental

Las evaluaciones de riesgos constituyen la mejor herramienta disponible para apoyar desde el punto de vista científico técnico la toma de decisiones (instrumento de gestión) relacionadas con sustancias químicas y las actividades potencialmente contaminantes. En las evaluaciones de riesgos ambientales o ecológicos (ERA) se trata de identificar la probabilidad de que se produzcan efectos adversos sobre la estructura y función de los ecosistemas y la magnitud de los mismos, y se considera que el nivel de protección es de

poblaciones o comunidades; no el de individuos, donde los receptores son grupos taxonómicos relevantes para cada compartimento ambiental (aire, agua, sedimentos o suelo). En realidad, la evaluación de riesgos es parte de un proceso más complejo: el análisis de riesgos (Tarazona Lafarga, 2007)

Básicamente un ERA consta de los siguientes pasos: En la Figura 1, se presenta el proceso general de la ERA. Garcia (2004)

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

El análisis o caracterización de riesgo comprende las siguientes fases (Tarazona,2007)

1. Definición o formulación del problema: En la que se establecen cuáles son los riesgos (tipos, actividades, etc.) que se van a analizar, así como las condiciones del análisis. Supone el desarrollo de un modelo conceptual como una descripción y representación visual de las relaciones existentes entre los contaminantes y los receptores que pueden verse afectados, incluye las fuentes y vías por las que se eliminan las sustancias químicas al medio ambiente, el comportamiento de estas sustancias en los diferentes compartimentos ambientales, y las rutas por las cuales llegan a los organismos vivos y provocan sus efectos (Tarazona,2007).

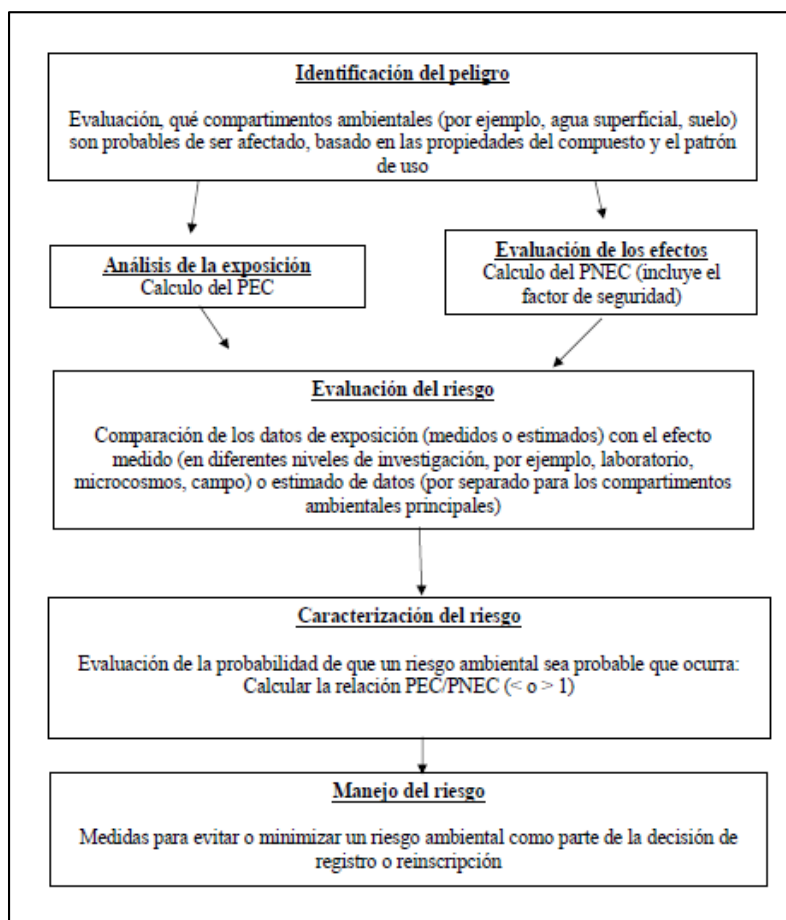


Figura 1. Proceso General de la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA)

Nota: García, (2004)

2. La evaluación de riesgos: como fase de revisión del conocimiento científico que se estructura en: (García (2004))

a) Evaluación de los efectos: Identifica los peligros para la salud y/o el medio ambiente causados por la sustancia xenobiotica y estableciendo relaciones dosis/respuesta para aquellos más relevantes.

b) Evaluación de la exposición: estudia los mecanismos y vías por los que la sustancia alcanza a los receptores relevantes, realizando estimaciones cuantitativas de la exposición para los receptores relevantes.

c) Caracterización del riesgo: Comparando los niveles de exposición con los efectos esperables para establecer, cualitativa o cuantitativamente, la probabilidad de que se produzcan efectos y la magnitud de los mismos.

3. La gestión de los riesgos: se consideran las posibles medidas para mitigar o al menos reducir los riesgos identificados; se comparan los riesgos de diferentes alternativas; y se valora la viabilidad técnica y las implicaciones socioeconómicas para tomar la decisión más adecuada. (Tarazona,2007)

4. La comunicación de riesgos: se establecen los caminos de interacción e intercambio de información entre los diferentes grupos participantes (evaluadores, gestores, responsables políticos y ciudadanos) y se desarrolla una estrategia para informar

2.2.8.2. ERA de Pesticidas

“Según la EPA la evaluación de riesgos relacionado a pesticidas se define por los siguientes elementos” (USEPA, 2006).

Caracterización de la exposición: Estima la exposición potencial de animales, plantas, y fuentes de agua a residuos de plaguicidas en los mismos. Esta caracterización incluye información sobre la frecuencia, el tiempo y la cantidad de pesticidas a los que un organismo puede estar expuesto. Se basa en el destino ambiental y los datos de transporte, así como en información de modelado y monitoreo.

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

2.2.9. Biomarcadores

Originalmente los biomarcadores se identificaron en el campo de la medicina humana y fueron promovidos para su uso en la toxicología ambiental a principios de la década de 1990. Un biomarcador es una respuesta biológica a los productos químicos que dan una medida de la exposición y a veces también, del efecto tóxico (Gupta, 2014).

“Los biomarcadores son los cambios medibles, ya sean estos bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un tóxico. Se dividen en tres categorías como marcadores de efecto, de exposición, y de susceptibilidad” (Gupta, 2014).

- Biomarcadores de exposición: son medidas de sustancias internas en un sistema biológico, reflejando diversas manifestaciones de las dosis internas que resultan de la exposición (Gupta, 2014).
- Biomarcadores de efecto: son cualquier cambio en un sistema biológico que refleja el deterioro cuantitativo o cualitativo resultante de la exposición. Si bien se hace una distinción entre biomarcadores de exposición y biomarcadores de efecto, en la práctica las dos áreas se superponen (Gupta, 2014).
- Biomarcadores de susceptibilidad: son indicadores que miden los cambios a nivel individual o de población que puedan influir en la respuesta a los agentes ambientales. Estos indicadores pueden incluir características tales como una capacidad metabólica mejorada para convertir un

químico en sus metabolitos reactivos, más tóxicos, o cambios en el número de sitios receptores que son críticos para una respuesta específica (Gupta, 2014).

2.2.9.1. Relación Dosis-Respuesta.

La relación dosis-efecto o dosis-respuesta es la correspondencia entre la cantidad de un tóxico y la magnitud del efecto que causa, y es uno de los conceptos centrales de la toxicología. Una relación dosis-respuesta, describe la probabilidad de una respuesta específica mediante una relación matemática consistente, que describe la proporción de organismos de prueba que responde a una dosis específica para un periodo de exposición dado. Puede parecer fácil establecer, una relación dosis-respuesta, sin embargo, es necesario tener en cuenta una serie de suposiciones: La primera es, que la respuesta observada es causada por la sustancia administrada, debe establecerse una relación causal entre la dosis administrada y la respuesta observada. La segunda, supone que la magnitud de la respuesta está directamente relacionada con la magnitud de la dosis y tercero la relación dosis-respuesta establece que es correctamente posible observar y medir una respuesta (Gupta, 2014).

El efecto o respuesta tóxica, es un cambio orgánico permanente que debe de poder ser medido en el componente bajo estudio y tener un valor de cero cuando la dosis es cero. Puede ser medido en diferentes niveles; molecular, celular, órgano, organismo, pero independientemente del nivel, el efecto debe ser medible. La magnitud y tipo de los efectos adversos producidos dependen de la duración de la exposición, así se tienen que, las exposiciones agudas se refieren a exposiciones de menos de 24 horas y usualmente a una sola dosis, las exposiciones subagudas corresponden a exposiciones de semanas a tres meses; y las exposiciones crónicas corresponden a exposiciones por más de tres meses o una determinada fracción del tiempo de vida normal del organismo en estudio (Gupta, 2014).

2.2.9.2. Parámetros Toxicológicos Determinados a Través de las Pruebas de Toxicidad.

Las pruebas de toxicidad permiten establecer parámetros toxicológicos, a través de la elaboración de la curva dosis-respuesta son:

- **CE50** Concentración Efectiva o de Inhibición media: Concentración a la que se produce una reducción del 50% en alguna medida del impacto crónico (crecimiento, reducción de fecundidad etc.), durante un período de exposición específico, que puede ser el ciclo de vida de los organismos de prueba (meses o un período mayor).
- **DE50** (Dosis efectiva media): las dosis que tienen el efecto de una disminución del 50% en el valor del punto final medido. La diferencia con la CE es que la cantidad del material efectivo se da como una dosis y es la dosis que produce una respuesta igual a la mitad de la respuesta máxima. Si se midieron efectos cuantales, entonces la DE50 es la dosis que produce una respuesta deseable determinada en el 50% de la población.
- **CL50**: Concentración Letal media las concentraciones que causan mortalidad de 50% en la prueba organismos - estimados por medios gráficos o computacionales. La CL50 se determina estadísticamente a partir de los porcentajes de mortalidad obtenidos de la lectura final del bioensayo.
- **DL50**: Dosis letal media las dosis que causan una mortalidad del 50% en organismos de prueba estimado por medios gráficos o computacionales. La forma de calcular este parámetro es idéntica al utilizado para obtener la DE50, pero en este caso se usa la curva de efectos letales
- **NOEC**: (*No Observed Effect Concentration*), concentración o nivel sin efectos observados. Es la concentración o dosis aplicada más alta en la prueba, que no mostró ningún efecto cuando se probó, en comparación con el control no tratado.

- NOAEL: (*Non Observed Adverse Effects Level*) es el nivel de exposición experimental que representa el máximo nivel probado al cual no se observan efectos tóxicos. Para el propósito de evaluación de riesgos éste es el dato clave que se obtiene de los estudios de Dosis-Respuesta. Si las exposiciones experimentales fueron intermitentes, se corrige el valor del NOAEL para que representen exposiciones continuas.
- LOEC: (*Lowest Observed Effect Concentration*), concentración o nivel de efectos observados más bajos, la concentración más baja aplicada que ha causado un efecto.
- LOAEL (*Lowest observed adverse effect level*), El nivel experimental más bajo, en el estudio crítico, en el que se observa que se produce el efecto adverso, también llamado después de las conversiones dosimétricas para ajustar por las diferencias en especie, se conoce como efecto tóxico crítico.

“*Endpoints*” o valores de referencia final, Un punto final es una característica de un componente ecológico que puede verse afectado por la exposición a un agente estresante, clasificándose en dos tipos: puntos finales de evaluación (expresiones del valor ambiental real que se debe proteger) y puntos finales de medición (respuestas medibles a un factor estresante que están relacionadas con las características valorada elegidas como puntos finales) (Suter, 1993)

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y Diseño de la Investigación

El diseño de investigación de la presente investigación se detalla a continuación:

3.1.1. Tipo de Fuente

En la investigación de campo:

- Recolección de muestras de papa.
- Recolección de muestras de suelos.

En la investigación de Laboratorio:

- Cuantificación de plaguicidas residuales por Cromatografía de Gases y HPLC en papa y suelo.
- Determinación de Límite Máximo Residual LMR
- Evaluación de Riesgo Toxicológico de dos plaguicidas seleccionados mediante Bioensayos

3.1.2. Temporalidad

El trabajo en campo abarca el periodo de cosecha de papa en la zona de estudio. El trabajo de laboratorio fue realizado conforme se fueron obteniendo las muestras tanto en la determinación de plaguicidas residuales como en las evaluaciones de toxicidad.

3.1.3. Amplitud y Organización de los Datos

La investigación planteada no solo hace énfasis en las características aisladas investigadas, (riesgo toxicológico, en papa y en suelo en la zona de estudio por uso de plaguicidas) sino más

bien en la unidad de estudio como totalidad, es decir, en todo aquello que caracteriza e identifica, el riesgo toxicológico por uso de plaguicidas, por tanto, se denomina como diseño de caso.

3.1.4. Tipo de Investigación

El tipo de investigación a ser empleado en la ejecución del presente trabajo será el Transversal, Experimental Y Cuantitativa.

- Transversal: la investigación propuesta evalúa un evento dado (riesgo toxicológico) en un momento temporal definido (periodo de cultivo de papas 2017)
- Experimental: analiza los resultados de una intervención deliberada sobre una o más variables específicas para la aplicación de los bioensayos de toxicidad.
- Cuantitativa: para la determinación de los plaguicidas residuales por GC en las muestras de papa y suelo. Así como para la determinación de los niveles de toxicidad.

3.2. Variables

3.2.1. Variable Independiente

- **X1:** Muestras de papa y suelo provenientes de 3 comunidades de Chinchero-Cusco.
- **X2:** Plaguicidas Organoclorados y Organofosforados residuales en muestras de papa y suelo.

3.2.2. Variable Dependiente

- **Y1:** Concentración de residuos de plaguicidas en muestras de papa
- **Y2:** Concentración de residuos de plaguicidas en muestras de suelos.
- **Y3:** Evaluación de toxicidad de Metamidafos (OF) y Clorotanolil (OC) en sistemas biológicos de prueba (*Vicia faba L.* y *Eisenia foetida*).

3.3. Área de Estudio

Las muestras tanto de suelo agrícola como las muestras de papa, fueron procedentes del distrito de Chinchero, ubicado a 3762 m.s.n.m. perteneciente a la provincia de Urubamba, Departamento del Cusco. Distrito que tiene una extensión de 96.4 km², compuesto de dieciséis comunidades. El acceso es por carretera asfaltada, y está ubicado estratégicamente en el cruce de tres caminos que conectan Pumamarca, Yucay y Cusco.

La principal actividad económica es la agricultura, el 55% de los agricultores se dedica al cultivo de papa, el 15% a cereales, otro 15% a tubérculos menores, el 10 % a fabáceas y entre el 2 y 3% a otros cultivos. La actividad agropecuaria es una de las principales fuentes de trabajo y de subsistencia de la población, tanto de la microcuenca de Cachimayo, Huaypo, Yanacona, Piuray y Corimarca. Dicha actividad se realiza generalmente con tecnología tradicional y supeditada a las condiciones climáticas. Hoy como antaño, Chinchero es considerado el granero del Cusco. La zona cuenta con recursos hídricos muy importantes como las lagunas de Huaypo y Piuray.

3.4. Metodología

3.4.1. Diseño Metodológico

Siguiendo el Flujograma presentado en la Figura 2, el trabajo se organizó en 3 fases:

Fase I: Análisis fisicoquímico de las muestras de suelo y cuantificación de plaguicidas residuales (OC y OF) por análisis GC-FID en las muestras de papa y suelo colectadas en el área de estudio.

Fase II: Se seleccionó 2 plaguicidas de los encontrados en la evaluación de las muestras de papa y suelo provenientes de Chinchero Metamidafos (OF) y Clorotanolil (OC), se procedió a realizar pruebas de toxicidad a diferentes concentraciones empleando como organismos de prueba a *Eisenia foetida* y *Vicia faba*. Así mismo se elaboraron tablas de resumen con los datos toxicológicos (NOEC/NOAEL, LOEC/LOAEL) de los otros plaguicidas residuales cuantificados en base a datos obtenidos de la revisión bibliográfica.

Fase III: Se determinó el riesgo toxicológico alimentario y ambiental, en base a los datos obtenidos en la etapa I y en la etapa II, mediante la determinación de la Caracterización de riesgo alimentario para los plaguicidas paration, metamidofos, malation, clorotanolil, heptacloro, endosulfan en las muestras de papa y mediante el Cociente de riesgo (CR) de suelos para los plaguicidas Metamidafos y Clorotanolil.

3.4.2. Toma de Muestras de Papa y Suelo para Determinación de Plaguicidas Residuales

Las muestras de papa y suelo fueron colectadas en áreas de cultivo pertenecientes a Sectores diferentes distribuidos en 3 comunidades (3 muestras por comunidad) en Julio de 2017. El análisis de plaguicidas residuales fue realizado por el Laboratorio FRAQTAL SA.-Lima. La parte experimental del trabajo fue realizado en el Laboratorio de Biología de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, entre Julio de 2017 y Julio de 2018.

Se seleccionaron 09 muestras de papa del distrito de Chinchero Provincia de Urubamba Región de Cusco). Las variedades utilizadas en el presente estudio y los puntos de muestreo fueron georreferenciadas (Tabla 2), se elaboró el mapa de ubicación geográfica de los puntos de muestreo

de papa (Figura 3) con el Software ArGIS (ESRI,2013). Las muestras de papa fueron tomadas en forma aleatoria en las parcelas de cultivo en las tres comunidades de estudio. En todos los casos la muestra de laboratorio fue de 2 kg proveniente por cuarteo de una muestra de campo entre 6 y 8 kg. Las muestras fueron enviadas al laboratorio en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas, se almacenaron a una temperatura de 4 °C hasta el momento de ser analizadas.

Las muestras de suelo fueron de tipo superficial compuesta, según lo recomendado para estudios de contaminación y toxicidad por plaguicidas en matrices ambientales (Mejías y Jerez, 2006; MINAM, 2014). Las características de las muestras utilizadas en el presente estudio se muestran en la Tabla 3 y se elaboró el mapa de ubicación geográfica de los puntos de muestreo de suelo (Figura 4) con el Software ArGIS (ESRI , 2013).

Las muestras de suelo fueron tomadas en forma aleatoria en las parcelas de cultivo en las tres zonas de estudio. Se colectaron sub muestras de 1 kg de los 30 cm superficiales (MINAM, 2014) en 8 puntos dentro de cada área seleccionada (terreno de cultivo de aproximadamente 0.5 ha). Al final se realizó el cuarteo para reducir y obtener una muestra compuesta representativa, obteniendo 3. Kg. proveniente por cuarteo de una muestra de campo entre 6 y 8 kg., siguiendo el procedimiento descrito en la Guía para muestreo de Suelos del Ministerio del Ambiente del Perú 2014. Las muestras fueron llevadas al laboratorio en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas, se almacenaron a una temperatura de 4 °C hasta el momento de ser analizadas.

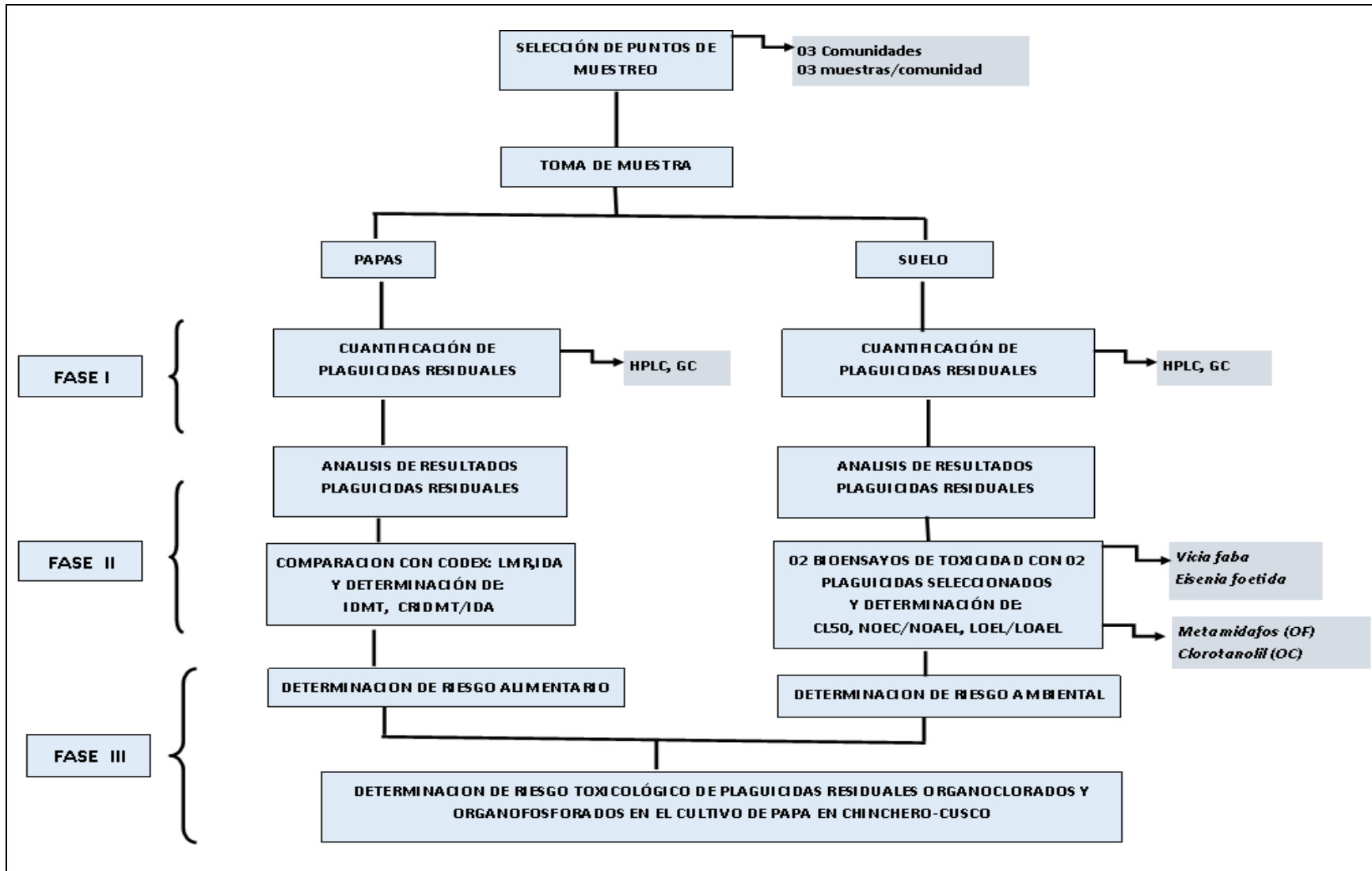


Figura 2. Flujograma de Estrategia Experimental

Nota: Adaptado de FAO/OMS (FAO, 2008) y USEPA (1992) y ECT (2015)

Tabla 2

Procedencia de Muestras de papa colectadas para Determinación de Plaguicidas Residuales

Código* Muestra	Variedad	Comunidad	Sector	Coordenadas UTM (Punto central $\pm 5m$)	Altura (m.s.n.m.)
CHYPA01	CICA	Yanacona	Huatata	8519772 N 814779 E	3746
CHYPA02	CICA	Yanacona	Umanes	8518807 N 816357 E	3784
CHYPA03	YUNGAY	Yanacona	Q'uerapata	8518193 N 819537 E	3784
CHHPA04	CANCHAN	Huaypo	San José	8516614 N 813520 E	3571
CHHPA05	COMPIS	Huaypo	Muyuri	8514285 N 817228 E	3777
CHHPA06	CICA	Huaypo	San José	8516769 N 813431 E	3770
CHAPA07	MACTILLO	Ayllopongo	Piuray	8514130 N 819421 E	3729
CHAPA08	CANCHAN	Ayllopongo	Kjamu	8516409 N 819797 E	3805
CHAPA09	COMPIS	Ayllopongo	Piuray	8514120 N 819421 E	3730

*Los códigos para las muestras se determinaron en base a su procedencia y número de muestra: CHYP01, donde, (CH) procedente del distrito de Chinchero, (Y) proveniente de la comunidad de Yanacona, (P) corresponde a muestra de papa y (01) correspondiente al número de muestra.

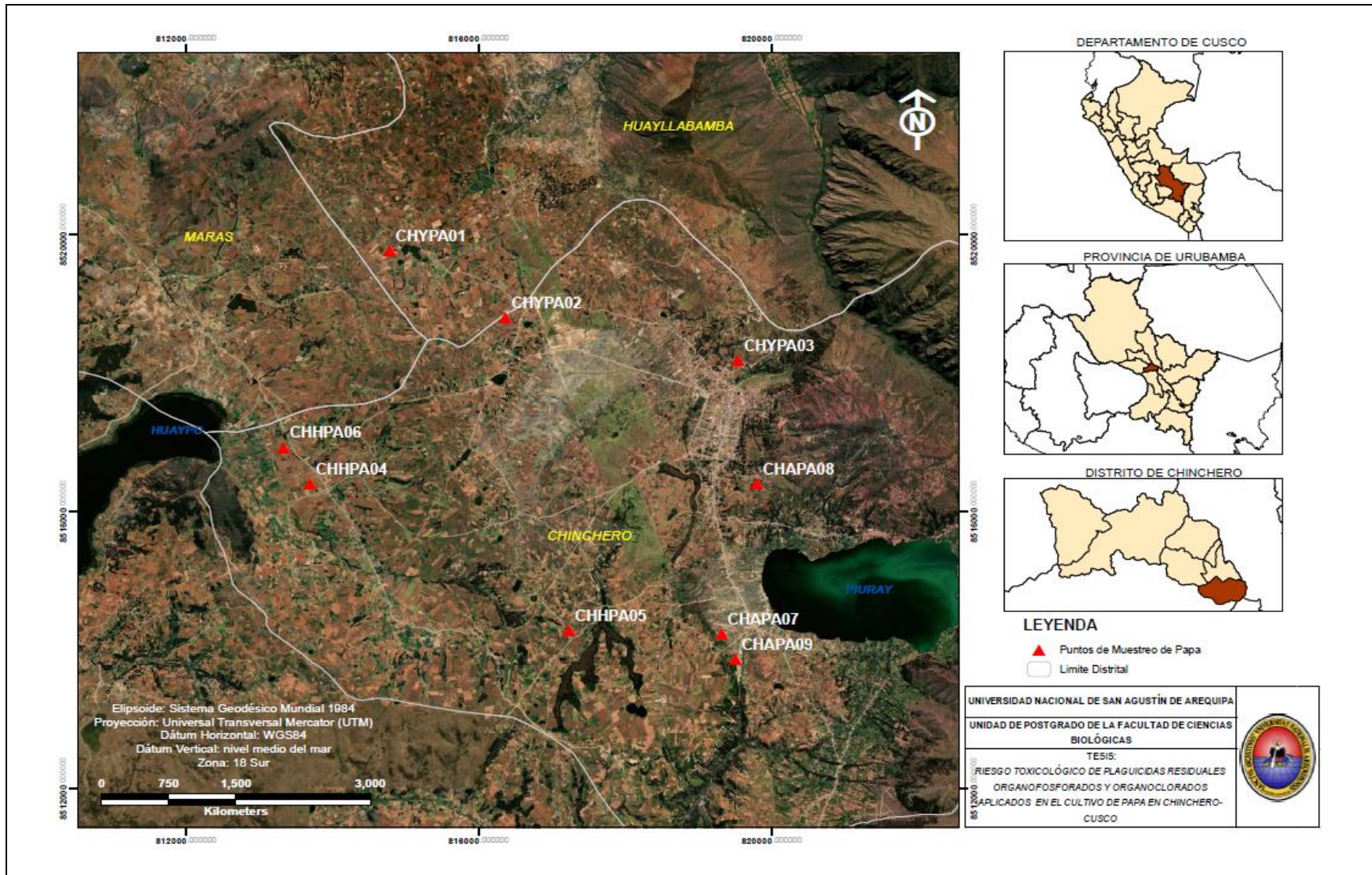


Figura 3. Mapa de ubicación geográfica de los puntos de muestreo de papa

Tabla 3

Procedencia de Muestras de suelo colectadas para determinación de Plaguicidas Residuales

CÓDIGO* MUESTRA	COMUNIDAD	SECTOR	Coordenadas UTM (Punto central $\pm 5m$)	Altura (m.s.n.m.)
CHYSU01	Yanacona	Q'uerapata	8518193 N 819557 E	3785
CHYSU02	Yanacona	Umanes	8518607 N 816347 E	3780
CHYSU03	Yanacona	Huatata	8519772 N 814779 E	3746
CHHSU04	Huaypo	San José	8516779 N 813451 E	3569
CHHSU05	Huaypo	Muyuri	8514285 N 817228 E	3774
CHHSU06	Huaypo	San José	8516769 N 813431 E	3770
CHASU07	Aylopongo	Piuray	8514130 N 819421 E	3729
CHASU08	Aylopongo	Kjamu	8516409 N 819803 E	3801
CHASU09	Aylopongo	Piuray	8514130 N 819421 E	3730

*Los códigos para las muestras se determinaron en base a su procedencia y número de muestra: CHYS01, donde, (CH) procedente del distrito de Chinchero, (Y) proveniente de la comunidad de Yanacona, (SU) corresponde a muestra de suelo y (01) correspondiente al número de muestra.

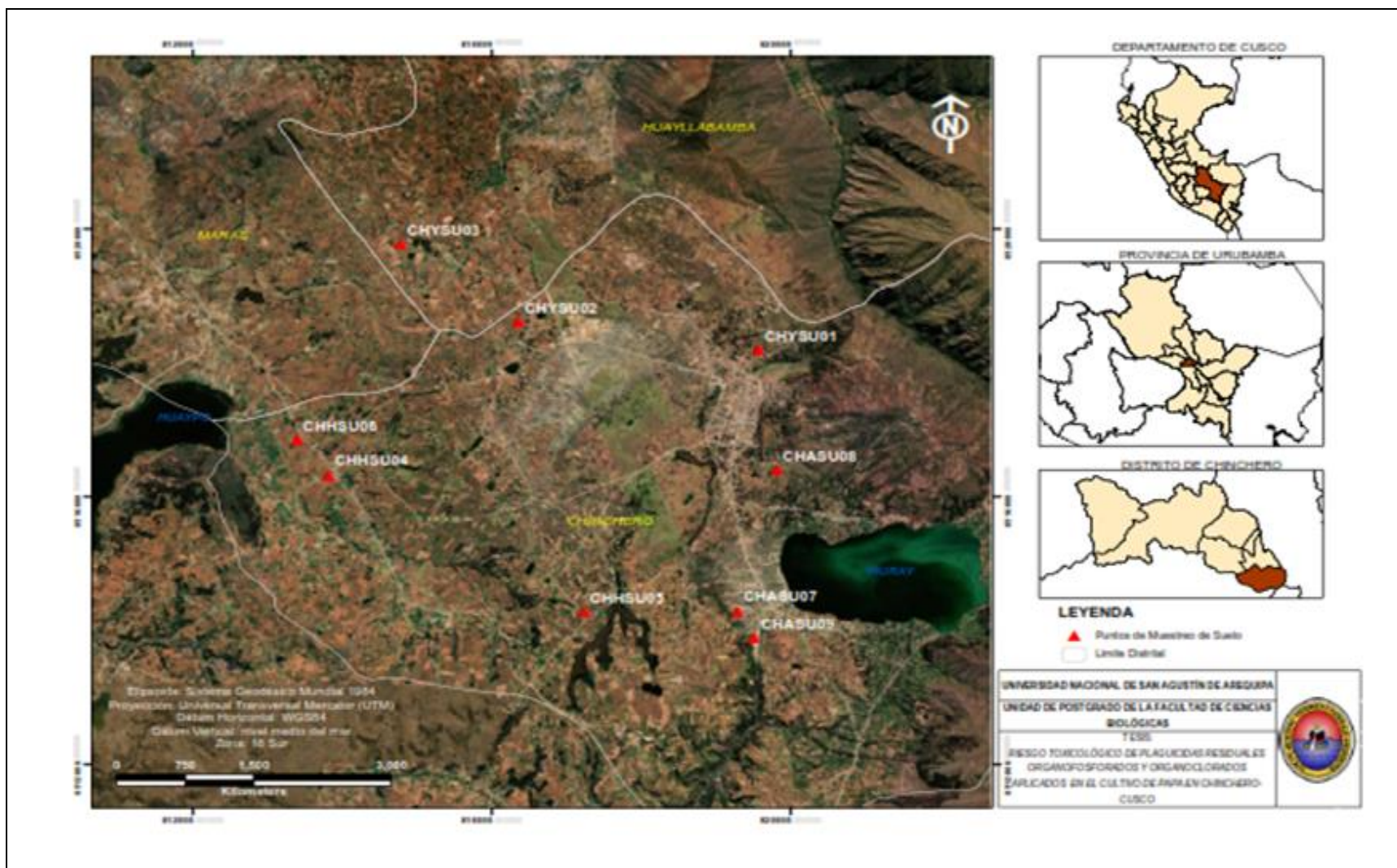


Figura 4. Mapa de ubicación geográfica de los puntos de muestreo de suelo

3.5. Determinación de Plaguicidas Residuales por Cromatografía de Gases y HPLC

Los análisis de plaguicidas residuales fueron realizados utilizando el Cromatógrafo de Gases Agilent 6890-N acoplado al Espectrómetro de Masas 5975B por el Laboratorio FRAQTAL SA. En la ciudad de Lima. (Entre los 2 a 3 días posteriores a la toma de la muestra).

La metodología utilizada por el laboratorio fue realizada de acuerdo al esquema presentado en la figura 5. Bajo las condiciones siguientes:

Inyección: 1 μ L (patrones) // 2 μ L (muestras)

Inyector: 240°C

Split: 1:5

Columna: Thermo TR-5MS

Gas portador: Helio

Horno: 40°C(1 min) $\xrightarrow{30^\circ\text{C}/\text{min}}$ 190°C(3 min) $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{min}}$ 300°C(5 min) Detector: 280°C

Analitos: 5, 10 y 20 ppm en CH₂Cl₂

Recuperación: Adición de 0,5 ml de sln. OCl-OP conteniendo 10ppm c/u.

Concent. final de recuperación en 1ml con FM (2,50ppm c/u)

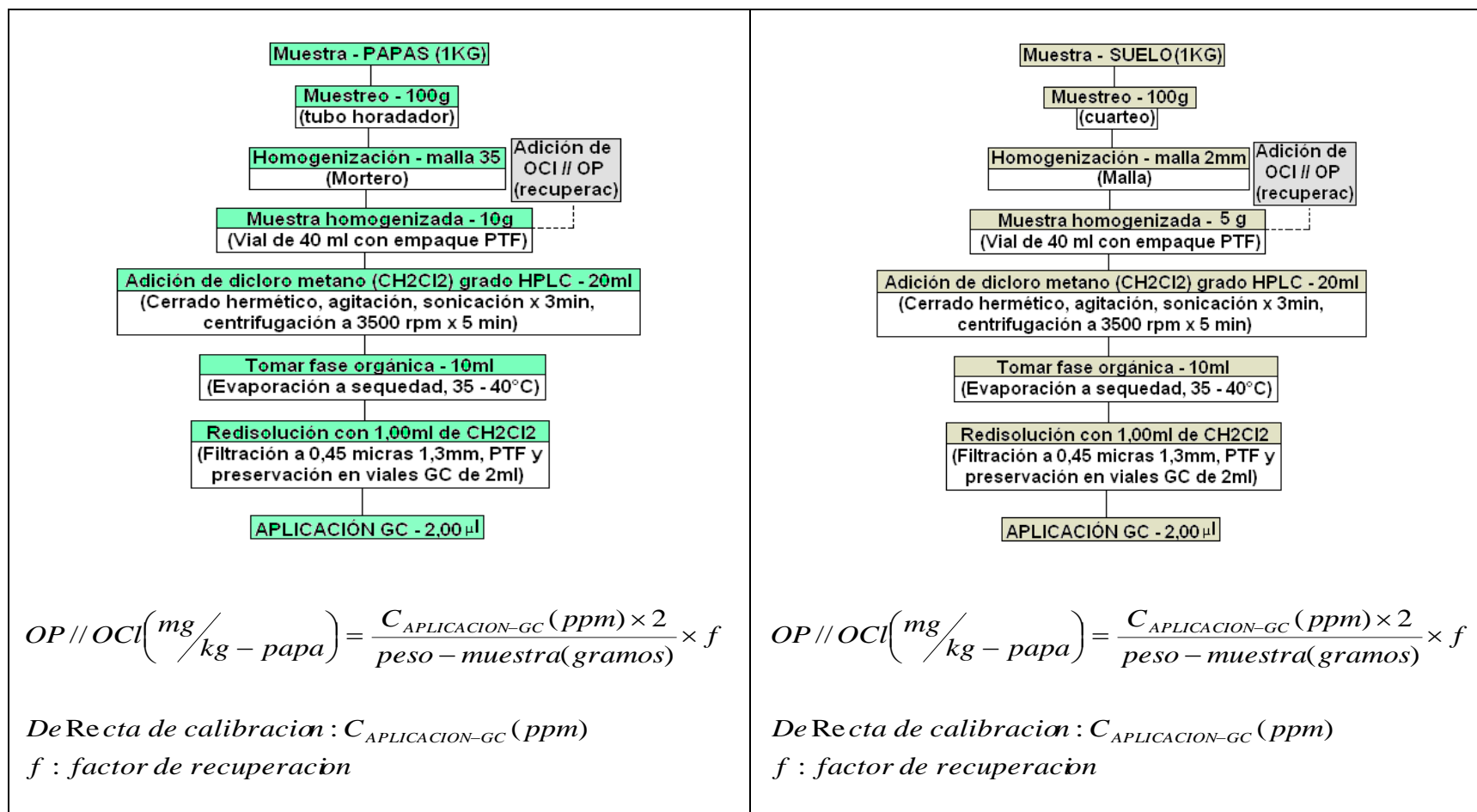


Figura 5. Esquema de procedimiento de Análisis de Plaguicidas Residuales por GC en Papas y Suelos

-Laboratorio FRAQTAL SA.-Lima

3.6. Determinación de Riesgo Toxicológico Alimentario

Para determinar el efecto de riesgo toxicológico del uso de plaguicidas organofosforados y organoclorados se llevó a cabo la metodología de Análisis de Riesgos relativos a la inocuidad alimentaria según el modelo reconocido por la FAO/OMS (FAO, 2008). Tomando en cuenta los siguientes parámetros de referencia de acuerdo a lo especificado en la figura 6.

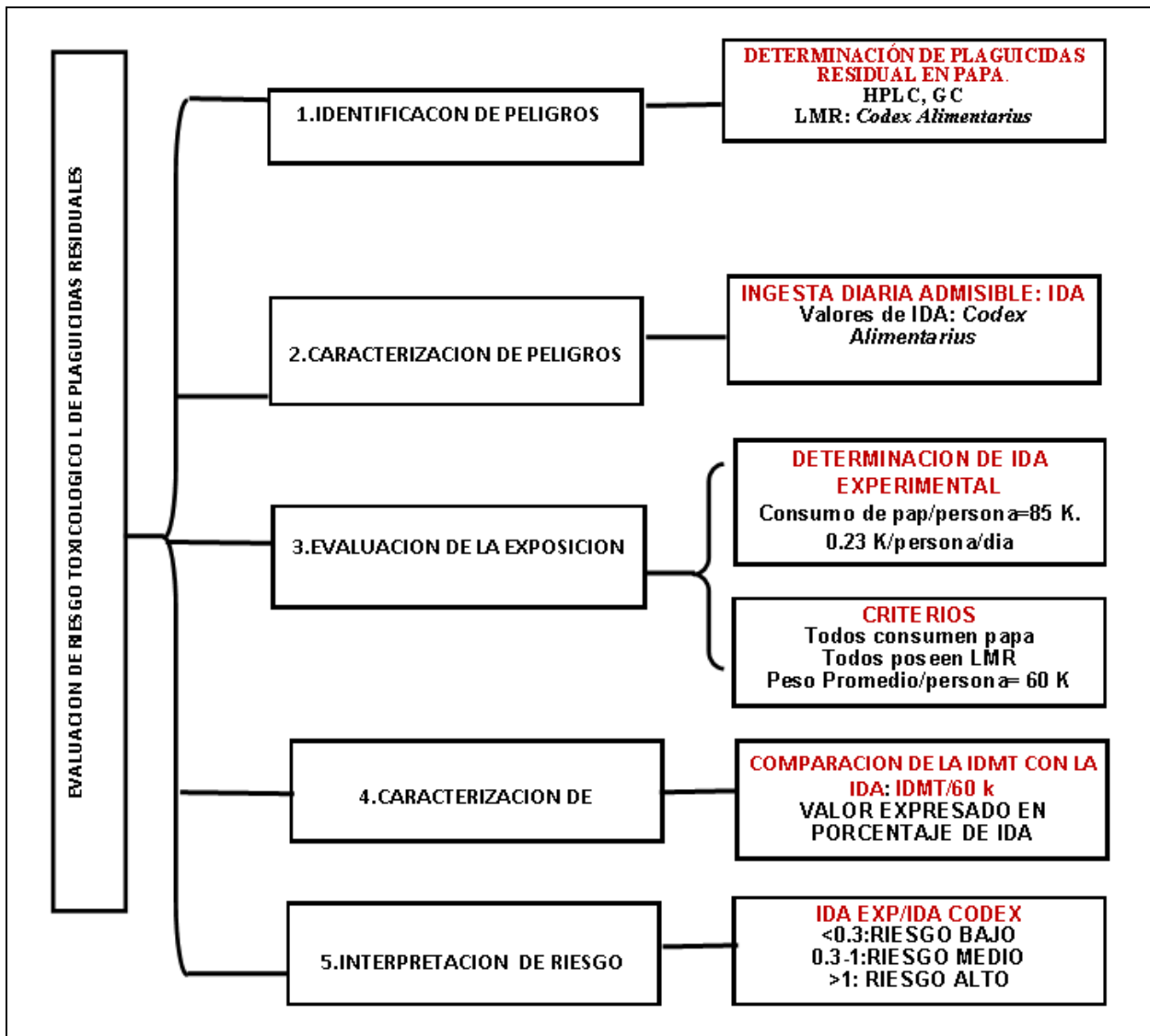


Figura 6. Procedimiento de Evaluación de Riesgo Toxicológico Alimentario

Nota: Adaptado del modelo reconocido por la FAO/OMS (FAO, 2008).

a. Límites Máximos Residuales (LMR).

Para el cálculo de la exposición dietética se tuvieron en cuenta aquellos residuos que fueron detectados o cuantificados durante el estudio. Los LMR tomados como referencia en este trabajo fueron el valor determinado por el *Codex Alimentarius*” (*Codex Alimentarius*, 2017).

b. Ingesta Diaria Admisible (IDA).

Para evaluar la exposición por la dieta a los residuos o IDA experimental se utilizó el método determinista teniendo en cuenta el promedio de aquellos valores de residuos que excedieron el LMR en cada residuo de plaguicida encontrado por el consumo promedio/habitante = IDA Experimental (IDAExp). Para este cálculo se tomó en cuenta el nivel de consumo del peruano promedio según datos reportados por el INEI, establece que su consumo en la dieta humana promedia los 85 kg por habitante al año lo que representa un 0.23 K/persona/día (INEI, 2017)

“Se consideró también los valores de referencia de la IDA establecido por el *Codex* para la vida de un individuo sin ocasionar riesgos en su salud *Codex Alimentarius*” (*Codex Alimentarius*, 2017).

c. Cálculo de la Ingesta Diaria Máxima Teórica (IDMT).

La ingestión diaria máxima teórica de los residuos de un plaguicida (IDMT) se calculó en base a la relación: $IDMT = LMR \times C$ (mgc/kg.día) asumiendo que: 1.Todos consumen papa ; 2.Todos poseen un Límite Máximo Residual (LMR); 3.El peso promedio es de 60kg.

$$\text{IDMT} = \text{LMR} * \text{C} * (\text{mgc}) / (\text{kg. PC})$$

Donde:

LMR = Límite Máximo Residuo (mgplaguicida / kgAlim)

C = Consumo Diario (kgAlim / Persona. día)

(mgc: miligramos de contaminante)

(kgAlim: Kilogramos de Alimento)

PP = Peso Promedio (kgPC / Persona)

(kgPC: Kilogramos de Peso Corporal)

d. Comparación de la IDMT con la IDA.

Para comparar la IDMT con la IDA, la IDMT se dividió por un peso corporal medio hipotético, que en este estudio se fijó en 60 kg (OMS, 1997). Los resultados de los cálculos de la IDMT se expresaron como porcentaje de la IDA y se redondearon a una cifra significativa (SIMUVIMA/Alimentos, 1997)

e. Caracterización del riesgo.

La caracterización en el Análisis de Riesgos se realizó siguiendo el criterio cualitativo según la Guía FAO/OMS 2011, donde el valor de la IDAExp se comparó con la IDA establecida por el *Codex* (WHO, 1997). Los resultados se pueden caracterizar bajo dos criterios: 1: caracterización utilizando la Guía FAO/OMS 2011, IDA Exp/IDA < 30 % de la IDA: Riesgo Bajo. IDA Exp/IDA entre 30 a 100 % de la IDA: Riesgo Medio. IDA Exp/IDA > 100 % de la IDA: Riesgo Alto. y 2. Utilizando el “criterio de evaluación por bandas porcentuales”, donde se realiza la clasificación de la evaluación de exposición en riesgo bajo, medio o alto,

utilizando la relación IDAexp/IDA, criterio que fue tomado en cuenta en la presente investigación, en los que, valores menores a 0,3 se clasifican como Riesgo Bajo; entre 0.3 y 1 como Riesgo Medio; y mayor a 1 como de Riesgo Alto o Inaceptable, Otalvaro et. al. (2015) y Castilla, Álvis y Álvis (2010)

3.7. Determinación de Riesgo Ambiental

3.7.1. Determinación de Plaguicidas Residuales por Cromatografía de Gases y HPLC

Los análisis de plaguicidas residuales fueron realizados utilizando el Cromatógrafo de Gases Agilent 6890-N acoplado al Espectrómetro de Masas 5975B por el Laboratorio FRAQTAL SA. En la ciudad de Lima. (Entre los 2 a 3 días posteriores a la toma de la muestra).

La metodología utilizada por el laboratorio fue realizada de acuerdo al esquema presentado en la Figura 5 y lo descrito en el ítem 3.5

3.7.2. Bioensayos para Valoración Toxicológica

Se realizaron bajo condiciones de laboratorio, los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Biología Molecular -Facultad de Ciencias-UNSAAC. La evaluación toxicológica de los plaguicidas con los organismos de prueba *E. foetida* y *Vicia faba*, fueron desarrollados según la Guía 207 (OECD, 1984)

Selección de Plaguicidas:

Por su frecuencia detectada y categoría toxicológica se seleccionó 02 plaguicidas: Metamidafos (OF), y Clorotanolil (OC) el obtenidos comercialmente que presenta las siguientes características tomadas de la etiqueta de venta:

1.- Clorotanolil

Nombre comercial: Bravo 720 SC, Nombre común: Chlorothalonil. Clase de uso: Fungicida. Grupo químico: Cloronitrilos. Tipo de formulación: Suspension concentrada. Registro Nacional N°: PQUA N° 075-SENASA. Importado y Distribuido por: FARMAGRO S.A. CATEGORIA TOXICOLÓGICA: Moderadamente peligroso (Ficha Técnica: Anexo 1)

2.- Metamidafos

Grupo químico: Organofosforado. Producto: Ingrediente activo: Metamidofos. Clase de uso: Insecticida Agrícola. Formulación: Concentrado Soluble Concentración: 600 g/L. Registro: PQUA N° 145 – SENASA. Titular: SILVESTRE PERÚ S.A.C. CATEGORIA TOXICOLOGICA: ALTAMENTE PELIGROSO (Ficha Técnica: Anexo 2)

3.7.3. Prueba de Toxicidad con *Vicia faba*

El método de referencia utilizado para este bioensayo de toxicidad es el de la EPA, 2002.

1. Para el bioensayo, se utilizaron 450 semillas distribuidas de la siguiente forma:
 - a) Un grupo control, formado por 30 semillas humedecido solamente con agua.
 - b) Catorce grupos de experimentación, formados por 30 semillas por grupo humedecidas con las distintas concentraciones del plaguicida.
2. Se utilizaron placas Petri, en cada uno de ellos se colocó 10 semillas de habas entre capas de algodón embebido con agua en el caso del grupo control y con las diferentes concentraciones del plaguicida en los otros grupos. Para cada concentración del plaguicida se utilizaron tres

replicas (30 semillas/ concentración) y para los controles tres replicas (30 semillas). El volumen de la solución toxica (10ml.) fue el mismo para todos los grupos, tanto experimentales como control.

3. Las concentraciones de los plaguicidas Metamidafos y Clorotanolil fueron con un factor de diferencia entre ellas no mayor de 2. Se utilizó las concentraciones de: 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81 3,90;1,95; 0,98 y 0,49 ppm. Se incluyó una prueba control (0 ppm). La prueba se realizó en condiciones de oscuridad y temperatura de 20 °C.

4. Los parámetros evaluados fueron:

Germinación (efecto letal) Se ha considerado germinada aquella semilla que desarrolla un primordio germinal superior a 1 mm de longitud durante un período de tiempo establecido (5 días). Esto no significa que el resto de las semillas sean estériles, sino que es posible que su retardo en la germinación sea superior.

No-germinación: Se ha considerado no germinada aquella semilla plantada que no ha alcanzado un primordio germinal igual o inferior a 1 mm en el tiempo de estudio.

5. Se continuó con la prueba luego de la evaluación de la germinación a los 5 días hasta los 14 días, donde se midieron las radículas por réplica y concentración de Metamidafos y de Clorotanolil, con estos datos se halló el promedio de elongación radicular por concentración de plaguicida y se comparó con el control negativo, determinando el %ICR (Inhibición del Crecimiento Radicular) Cuevas et al. (2008).

Elongación radicular (efecto sub letal) Después de cinco días de exposición, utilizando un vernier se procedió a medir la longitud de la radícula de cada semilla en todos los tratamientos.

6. Los valores de porcentaje de inhibición de germinación (%IG) permitieron hallar la CL50 (Concentración Letal Media), NOEC (Concentración más alta a la que no se observa efecto) y LOEC (Concentración más baja a la que se observa efecto), los porcentajes de inhibición de crecimiento radicular (%ICR), permitieron hallar el NOAEL (Nivel o concentración a la que no se observan efectos adversos) y LOAEL (Nivel o concentración a la que se observan efectos adversos), al compararlos con los valores de %IG y %ICR obtenidos en el control negativo de acuerdo a lo establecido (Díaz et. al. 2004).

3.7.4. Determinación de Parámetros de Riesgo Toxicológico Ambiental

Las evaluaciones del riesgo toxicológico ambiental fueron realizadas mediante las pruebas de toxicidad con organismos pertenecientes a dos niveles tróficos, *Eisenia foetida*. (Descomponedor) y *Vicia faba* (productor). En ambas pruebas se evaluó la mortalidad y se determinó la CL50 (concentración letal para el 50% de organismos), NOEC (*No Observed Effect Concentration*) y LOEC (*Lowest Observed Effect Concentration*). El efecto subletal de pérdida de peso en *Eisenia foetida* y de Inhibición en el crecimiento radicular (ICR) en *Vicia faba* permitió determinar el NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level*) y el LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) de acuerdo a lo señalado por Díaz et. al. (2004).

Los “*endpoints*” o valores de referencia importantes para la determinación del Riesgo ecológico se obtuvieron para el caso del Metamidofos y de Clorotanolil de manera experimental. Los valores finales o “*endpoints*” se determinaron mediante el software suministrado por la US *Environmental Protection Agency* (US EPA): Probit Analysis Program, que analiza el porcentaje de efectos versus la dosis dentro del marco de la regresión (Alpha Raj, 2018).

Se aplicó para cada análisis de datos, de acuerdo a lo señalado por Díaz et. al. (2004), el análisis post hot (Dunnet), posterior a un análisis de varianza (ANOVA). para conocer las diferencias o similitudes entre cada muestra y la prueba de Kruskall Wallis dado que todas fueron no paramétricas y este test nos muestra a nivel grupal si existe una diferencia o no significativa. La obtención de dichos valores se logra al comparar los resultados obtenidos para un tratamiento en particular contra un control negativo (0 ppm), ello implica pruebas de hipótesis y se realizó mediante el Análisis de Varianza (ANOVA), seguido por la prueba a posteriori o post hoc de Dunnet. Este análisis estadístico past3. Donde el máximo valor de significancia al comparar las concentraciones con el control negativo (0ppm) que es menor a 0.05, representa la LOEC/LOAEL; y el mínimo valor de significancia que es mayor a 0.05 representa la NOEC/NOAEL. (Ammer, 2001).

3.7.5. Evaluación de Riesgo Ambiental

La evaluación de riesgo ambiental (ERA) se realizó en base a lo establecido en la Guía para la Evaluación del Riesgo Ecológico (USEPA, 1992) y lo propuesto por el *Edinburgh Center for Toxicology* (ECT) en el módulo de entrenamiento de evaluación de riesgo ambiental (2015). El procedimiento utilizado en la presente investigación se presenta en la Figura 7.

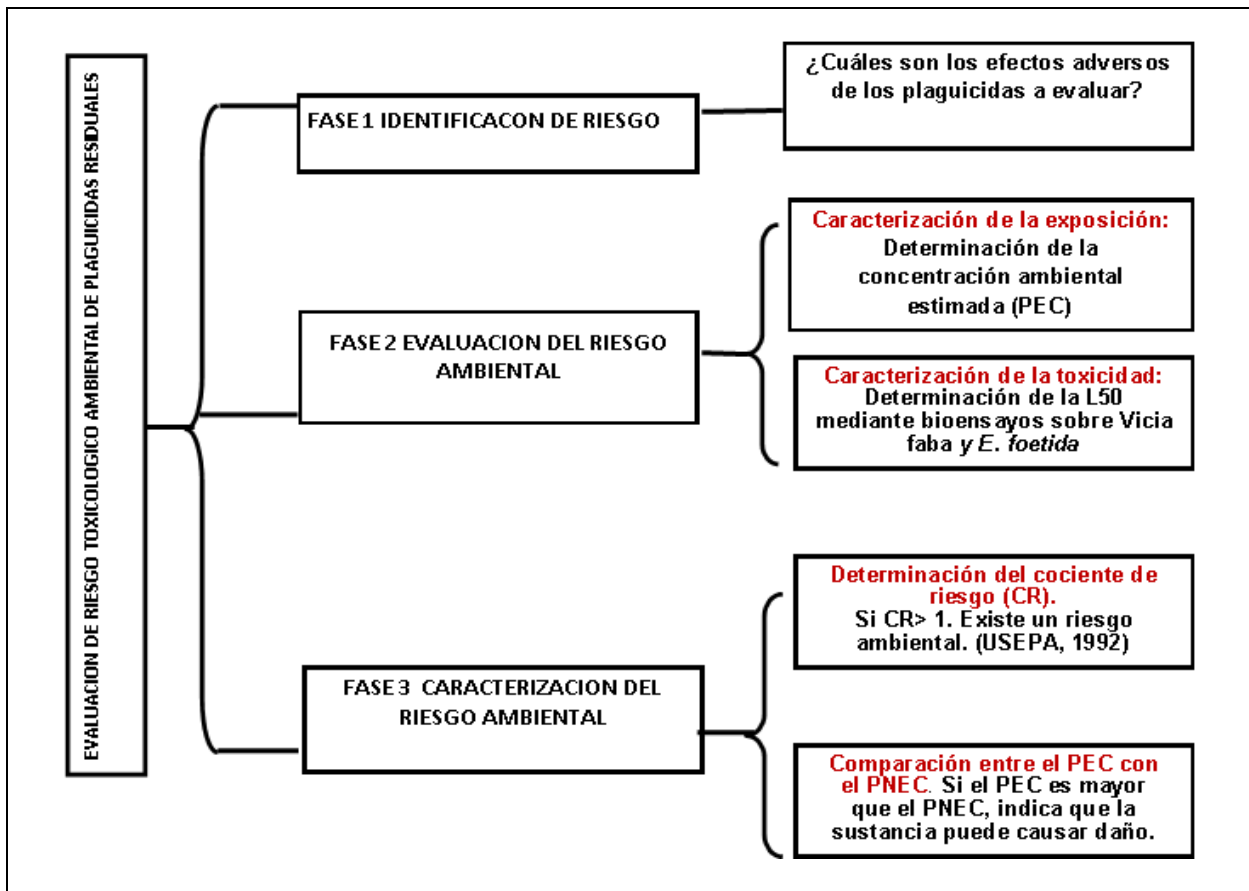


Figura 7. Procedimiento de evaluación de riesgo ambiental

Nota: Adaptado de la USEPA (1992) y de la ECT (2015)

CR=cociente de riesgo, LOC=nivel crítico,

PEC=Concentración ambiental estimada,

PNEC=Concentración prevista sin efecto

Fase 1: Identificación de Riesgo

Se estableció la relación entre los diferentes parámetros observados en campo y con el análisis de información histórica del sitio, identificando la actividad que produce la contaminación del recurso suelo del área de estudio e identificando los plaguicidas. Se

desarrolló un modelo conceptual breve conteniendo información sobre: la evaluación cualitativa de la fuente, transporte (vía por la que se eliminan las sustancias químicas) y destino de los contaminantes en el ambiente y la identificación de las rutas y vías de exposición, con una descripción gráfica de los mismos, puesto que no es parte de los objetivos de la presente investigación (Quispe Cárdenas, 2017).

Fase 2: Evaluación de Riesgo Ambiental

a) Determinación de la Concentración Ambiental Estimada

(PEC) = Predicted Environmental Concentration: se utilizó los valores de la Concentración ambiental del plaguicida residual Organofosforados y Organoclorados (ppm) durante la cosecha de papas (Julio-2017), a un mes después de la última aplicación de los plaguicidas de uso por cada agricultor.

Caracterización de la Toxicidad

Se determinó la CL50 a partir de los datos de mortalidad en *Eisenia foetida* y no germinación en *Vicia faba*.

Fase 3 Caracterización del Riesgo Ambiental USEPA (1992) y la ECT (2015)

a) Determinación del Cociente de Riesgo (CR)

Para identificar la probabilidad de que se produzcan efectos adversos y la magnitud de los mismos, en el que se comparan concentraciones ambientales o de exposición al contaminante (plaguicida) con las concentraciones o niveles que originan efectos adversos lo suficientemente bajos como para proteger la salud humana y el medio ambiente (denominados “parámetros ecotoxicológicos” o “*endpoints*” según Tarazona (2007)); es decir se comparó los resultados

obtenidos de la concentración de plaguicidas residuales y el efecto tóxico en la Fase I y la Fase II en el marco del diseño metodológico.

$$CR = PEC / PNEC$$

Donde:

PEC = Predicted Environmental Concentration: Concentración ambiental del plaguicida (al momento de la aplicación en cultivo y 2 meses después de la última aplicación).

PNEC = Predicted Non Effect Concentration: NOAEL del organismo más sensible, se considera el NOAEL como criterio de mayor protección.

La interpretación de resultados se realizó en base a los siguientes criterios propuestos por la USEPA (1992) y la ECT (2015)

- $CR \leq 1$, nivel a los que no se esperan efectos y se asume un riesgo suficientemente bajo como para ser aceptable.
- $CR (1-10)$, nivel a los que se esperan toxicológicos adversos, representa un riesgo moderado.
- $CR (\geq 10)$, nivel a los que se esperan toxicológicos adversos, representa un riesgo alto

“Los valores obtenidos de CR se compararon con el nivel crítico respectivo (LOAEL), de acuerdo a lo propuesto por la EPA. Se consideró la comparación entre el PEC con el PNEC. Si el PEC es mayor que el PNEC, indica que el plaguicida puede causar daño” (ECT, 2015)

3.8. Procesamiento y Análisis de Datos

“Para determinar la diferencia significativa (p-value) entre los valores de los plaguicidas residuales en cada muestra se aplicó la prueba de T-student” (Ammer, Harper, & Ryan, 2001)

Para el cálculo de los CL50/CE50/ se utilizó el método de análisis Probit que permite estimar la CE50 o CL50 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 perteneciente al Probit 0,5 corresponderá a la cantidad de sustancia capaz de generar el efecto estudiado en la mitad de la población. La LC50 y sus límites de confianza al 95 % se calcularon con el programa de análisis Probit (Alpha Raj, 2018).

Los resultados de los ensayos de toxicidad en *Vicia faba* y *Eisenia foetida* fueron analizados, primero e determino su distribución normal (prueba Shapiro Wilk) y homogeneidad de varianzas (prueba Levene). El análisis de varianza (ANOVA) fue usado para evaluar el efecto de los plaguicidas sobre la mortalidad y el peso en el ensayo de *Eisenia foetida* y no germinación e inhibición del crecimiento radicular en el ensayo de *Vicia faba*. Asimismo, se aplicó las pruebas post-hoc (a posteriori) de Tukey y Dunnet para comparar las medias de las variables independientes (mortalidad y peso) y (no germinación y la inhibición de crecimiento radicular).

Para aquellas variables no paramétricas se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. Se aplicó para cada una el análisis post hot (Dunnet), para conocer las diferencias o similitudes entre cada muestra. Todas las pruebas estadísticas fueron analizadas mediante el paquete estadístico PAST 3. (Ammer, Harper, & Ryan, 2001)

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Determinación de Riesgo Toxicológico Alimentario

4.1.1. Identificación y Caracterización de Toxicidad en Papa

En la Figura 8, se presenta el tipo de plaguicida residual detectado en las 09 muestras analizadas, se incluye la estructura, la categoría toxicológica y uso. Los contaminantes identificados en las papas fueron: Clorotalonil, Heptacloro y Endosulfán dentro del grupo de plaguicidas organoclorados (OC) y Metamidofos, Paration, Malation, y Clorpirifos de los compuestos organofosforados (OP). En base a los resultados del análisis cuantitativo de plaguicidas residuales por cromatografía de gases y HPLC (Anexo 3 y Anexo 4), se observa que de los 10 plaguicidas cuantificados los organofosforados Metamidafos y Paration, así como los organoclorados DDT, Heptacloro y Diclorvos tienen categoría de Extremadamente Tóxico, el Endosulfan tienen categoría de Altamente Tóxico, el plaguicida Clorpirifos y Clorotanolil tienen categoría de Moderadamente Tóxico y los plaguicidas Malation y Diazinon tienen categoría de ligeramente tóxico.

La presencia de residuos de plaguicidas en todos los casos se podría deber a que generalmente los agricultores utilizan los plaguicidas en función de los tipos de plagas, y contaminación de los cultivos, que pueden ser diferentes en cada zona de cultivo por lo que terminan utilizando mezclas complejas de diferentes compuestos lo que conduce a un mal manejo de estos. Entre algunas de las causas estarían: dosis superiores a las recomendadas por el fabricante, inadecuados sistemas de aplicación y mezclas complejas de diferentes plaguicidas.

Estos resultados, demuestran la importancia de establecer programas de vigilancia y monitoreo de residuos de plaguicidas en los alimentos, puesto que la calidad de éstos no es la más apropiada, pone en riesgo a los consumidores y la ingestión de productos contaminados podría reflejarse en algunos años más, afectando a las próximas generaciones.

Además, la implementación de estos programas, generaría un cambio de actitud en los agricultores, haciendo que ellos cultiven los productos de acuerdo a las normas establecidas, así como las buenas prácticas agrícolas.

Murcia y Stashenko,(2008) “señalan que el monitoreo de la contaminación alimenticia tiene como objetivos: Proteger la salud, mejorar el manejo de recursos agrícolas y de alimentos, y prevenir pérdidas económicas”.

Es común que cuando comienza a usarse un nuevo plaguicida, los resultados obtenidos sean muy prometedores, consiguiéndose controlar a las plagas con poca cantidad de producto. Sin embargo, al cabo de un cierto tiempo suelen empezar a surgir problemas, tales como resistencia genética, inducción de la aparición de nuevas plagas, por lo que los agricultores de papa en las zonas de estudio estarían utilizando inadecuadamente estos productos generando riesgos para la salud humana.

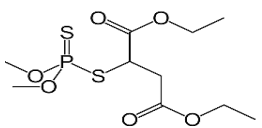
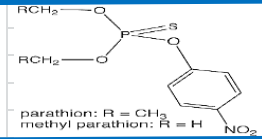
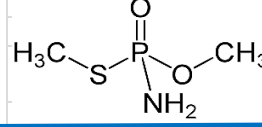
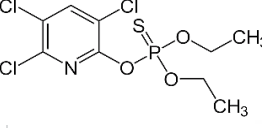
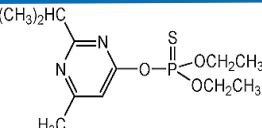
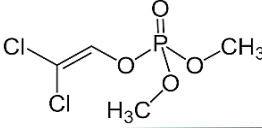
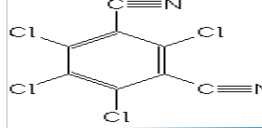
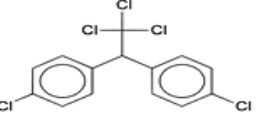
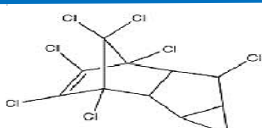
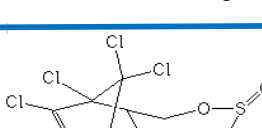
	Principio Activo	Clase	Estructura	Toxicidad
ORGANOFOSFORADOS	Malation	Insecticida		Ligeramente tóxico
	Paration	Insecticida		Extremadamente tóxico
	Metamidofos	Insecticida		Extremadamente tóxico
	Clorpirifos	Insecticida		Moderadamente toxico
	Diazinon	Insecticida		Ligeramente tóxico
ORGANOCLORADOS	Diclorvos	Insecticida		Extremadamente tóxico
	Clorotanilil	Fungicida		Moderadamente toxico
	DDT	Insecticida		Extremadamente tóxico
	Heptacloro	Insecticida		Extremadamente tóxico
	Endosulfan	Insecticida		Altamente tóxico

Figura 8. Características de Plaguicidas Residuales Detectados en Muestras de Papas y Suelos.

Nota: PAN Database (2020)

Puede generalizarse diciendo que, en ciertas circunstancias, el contacto con plaguicidas puede producir daños al ser humano. Si la dosis del plaguicida es elevada, puede llegar a producir la muerte, mientras que dosis bajas con largos períodos de contacto pueden provocar enfermedades serias, como algunos tipos de cáncer u otras enfermedades crónicas. El número de personas que mueren por pesticidas es relativamente bajo, pero decenas de miles de personas se intoxican con ellos todos los años en el mundo, presentando síntomas de mayor o menor gravedad (OMS-OPS, 2007).

4.1.2. Análisis de la Exposición por Plaguicidas Residuales en Papa

Los gobiernos y las organizaciones internacionales han establecido una serie de límites máximos de residuos (LMR) que son bastante restrictivos en muchos casos e incluso por debajo de lo recomendados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud, para controlar los residuos de plaguicidas que resultan de su empleo autorizado en alimentos. Se debería, exigir el control de calidad para la comercialización de productos agrícolas, tanto en el ámbito internacional como nacional y su estricto cumplimiento garantizaría que los productos agrícolas lleguen al mercado para su consumo, con niveles de plaguicidas residuales por debajo del LMR (Coscollá & Coscollá, 2006).

La verificación continua de residuos de plaguicidas en alimentos, para determinar el grado de exposición de una población humana, es importante para conocer el grado de contaminación y las posibles consecuencias toxicológicas a largo plazo, tanto de moléculas de nueva síntesis como de las que han sido restringidas o prohibidas.

El Perú adopta los Límites Máximos Residuales-LMR de plaguicidas en papa establecidos por el *Codex Alimentarius*. (FAO/OMS, 2006). Un análisis de la exposición a los residuos de plaguicidas presentes en la papa (Tabla 4) demostró que de 09 muestras analizadas (Figura 9), 07 muestras (77.77%) exceden los Límite Máximo Residual de Metamidafos (0.05ppm).

Resultados similares se dan en el trabajo realizado por Aquino y Castro (2008) donde se reporta que el plaguicida Metamidafos es uno de los más utilizados en el cultivo de papa.

Se evidencia que la concentración más alta de Metamidafos (2.41ppm) excede en 48.2 veces el LMR establecido para la muestra CHHPA04 que corresponde a la variedad Canchan, cultivada en la comunidad Huaypo. La concentración más baja (<0.03) se determinó en las muestras CHHPA06 y CHAPA08 que corresponden a las variedades Cica y Canchan cultivadas en la comunidad de Huaypo y Ayllopongo respectivamente.

Muñiz (2014), mediante evaluaciones por GC, determino en muestras de papa procedentes de Andahuaylas (Apurimac) que la concentración más elevada para Metamidafos fue de 0,64 ppm, excediendo en 12,8 veces el límite máximo residual (LMR) establecido, mientras que en las muestras procedentes de Chinchero (Cusco), el valor más alto fue de 0,23 ppm.

La detección de Metamidafos se debe a que es un producto de uso cotidiano en el control de plagas de la papa, aunque en algunas ocasiones son usados conjuntamente con otros grupos de plaguicidas. Los insecticidas organofosforados tienen en la actualidad un papel preponderante como plaguicidas fitosanitarios que benefician la producción y calidad de papa. Sin embargo, cuando no se aplican correctamente pueden dispersarse en el ambiente y representar un peligro de salud pública. La presencia de residuos del plaguicida organofosforado Metamidafos en papa en casi la totalidad de muestras indica el amplio uso de dicho plaguicida ya que es un plaguicida de amplio espectro, además de su menor costo frente a otros plaguicidas utilizados en papa a pesar que se encuentra en la lista de plaguicidas restringidos por SENASA desde el año 2013.

La cuantificación de plaguicidas organofosforados en las muestras de papa se presentan en la Figura 10. Las concentraciones de Metamidafos cuantificadas en papa (Fig.10A) representan un exceso de plaguicida entre 3 a 13 veces en comparación al LMR, sin embargo, se debe considerar

que debido a su elevado consumo es posible que los consumidores puedan desarrollar alguno de los efectos de intoxicación provocados por este pesticida.

Estudios reportados por Murcia y Stashenko, (2008) afirmando que los alimentos más contaminados (con mayor número de residuos) fueron: tomate, papa y cebolla, evidencia el uso de este plaguicida en diferentes zonas productoras de papa. Consideran que la papa es uno de los alimentos más susceptibles al ataque de plagas, y en los que se utiliza sobredosisificación y mezcla de plaguicidas, siendo los plaguicidas organofosforados los más utilizados y estos se encuentran dentro de las categorías toxicológicas I y II.

Aquino y Castro (2008), realizaron el análisis toxicológico de identificación y cuantificación del residuo de plaguicida organofosforado Metamidafos en 20 muestras de papa en diferentes puestos de venta en el Departamento de Lima. Se determinó presencia de Metamidafos en la totalidad de muestras analizadas. De los 10 muestreos realizados en mercados mayoristas el 70% exceden el Límite Máximo Residual (LMR) mostrando una concentración máxima de 2 7055 ppm de Metamidafos y de los 10 muestreos realizados en mercados minoristas el 20% exceden el LMR mostrando una concentración máxima de 0,1753 ppm de Metamidafos. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con un p value =0.001, demostrando que las concentraciones de Metamidafos en casi todas las muestras están por encima de los límites permisibles significativamente.

Tabla 4

Concentración de plaguicidas residuales y Límite Máximo Residual- LMR en Muestras de Papas procedentes de tres Comunidades de Chinchero-Cusco

PLAGUICIDA ppm	Muestra									LMR*
	CHYPA01	CHYPA02	CHYPA03	CHHPA04	CHHPA05	CHHPA06	CHAPA07	CHAPA08	CHAPA09	
METAMIDOFOS	1.2	2.02	1.23	2.41	0.68	<0.003	0.87	<0.003	1.25	0.05
PARATION	0.098	0.094	0.166	0.011	0.031	0.164	0.137	0.011	0.034	0.2
MALATION	1.33	0.96	0.08	1.62	0.5	0.74	0.05	1.73	1.23	0.5
DIAZINON	0.011	ND	ND	ND	0.01	ND	0.01	ND	ND	0.01
CLORPIRIFOS	1.679	ND	ND	0.437	0.539	ND	ND	1.892	1.976	2
DICLORVOS	ND	0.006	ND	ND	0.006	ND	ND	0.006	0.006	0.01
HEPTACLORO	0.013	0.022	0.016	0.015	0.014	0.023	0.015	0.018	0.032	0.01
ENDOSULFAN	0.079	0.134	0.106	0.096	0.064	0.073	0.084	0.101	0.097	0.05
DDT	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.05
CLORATONOLIL	0.281	0.314	0.243	<0.003	0.143	0.147	0.213	0.098	0.16	0.01

Nota: *LMR: Limite Maximo Residual <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>

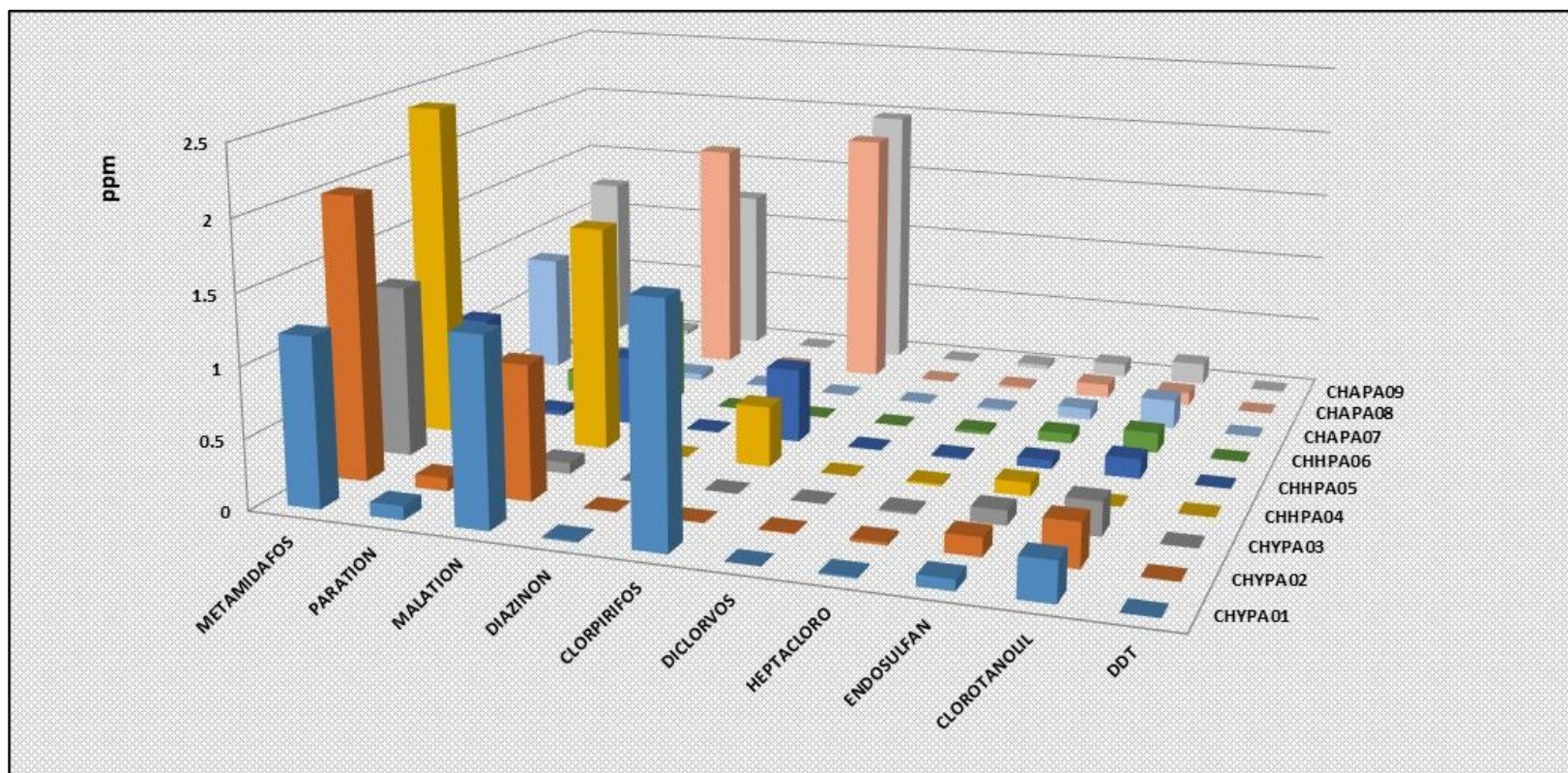


Figura 9. Concentración de Plaguicidas Residuales Organofosforados y Organoclorados en Muestras de Papa procedentes de Tres Comunidades de Chinchero-Cusco

En la figura 10 (B), se presenta el análisis de residuos del plaguicida Malation, se observa que, del total de muestras analizadas, 04 exceden los LMR establecidos para este plaguicida. La muestra CGHPA06 que corresponde a la variedad Cica tiene una concentración de 1.74 ppm representando un exceso del LMR en 3.5 veces. La concentración más baja se halló en las muestras CHAPA07 que corresponden a la variedad Mactillo con un valor de 0.05 ppm. La prueba de T-student demuestra que no existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con un p value =0.0795. Lo que quiere decir que las concentraciones de Malation en casi todas las muestras no tienen diferencia significativa con los valores del LMR.

El Malatión es un insecticida usado en cosechas agrícolas, en productos almacenados. La presentación comercial de Malatión puede ser de forma pura como líquido incoloro, y en forma de calidad técnica (un líquido amarillo-pardo), que contiene una concentración de Malatión mayor al 90% e impurezas en un solvente. El Malatión se produce desde 1950, en Estados Unidos, y su uso es como insecticida en muchos tipos de cosechas. La Administración de Drogas y Alimentos de USA (FDA) y la EPA permiten una cantidad máxima de 8 partes por millón (ppm) de Malatión como residuo en ciertas cosechas usadas como alimentos. La EPA, recomienda que los trabajadores antes de entrar en un terreno fumigado con Malation, deben esperar un tiempo determinado debido a que el Malatión puede ser perjudicial para la salud humana. (ATSDR, 2016)

En la Figura 10 (C), se presentan los valores detectados de Paration, se observa que, en todos los casos, los residuos de este plaguicida en papa están por debajo de LMR de 0-05ppm establecido por el *Codex alimentarius*. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con el p value =4.48-5, corroborando así, que las concentraciones de Paration en todas las muestras están por debajo de los límites permisibles significativamente para todas las muestras.

Si bien el Paration es un insecticida organofosforado que se usó en el pasado en los Estados Unidos y que aún se usa en otros países como insecticida y acaricida en gran variedad de cosechas, tiene categoría de IA. Extremadamente peligroso (OMS); I. Altamente tóxico (EPA), la ingesta de papa con excedentes de este compuesto podría representar problemas de toxicidad. Está Incluido en la lista del Fondo Mundial para la Naturaleza (WWF) de plaguicidas reportados como disruptores endocrinos y/o con efectos reproductivos, produce síndrome tóxico por inhibidores de la colinesterasa, toxicidad tópica con capacidad irritativa ocular y dérmica. Su toxicidad crónica y a largo plazo está asociada con neurotoxicidad: nivel 2 (colinérgica), carcinogenicidad, disrupción endocrina entre otros (EPA, 2015).

La cuantificación del plaguicida Diazinon se presenta en la Figura 10 (D), se observa que del total de muestras analizadas en 06 no fue detectado este plaguicida, habiéndose detectado en tres muestras CHYPA01, CHHPA05 y CHAPA07 con valores dentro de LMR establecido por el Codex alimentarius para este plaguicida. La prueba de T-student demuestra que no existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR siendo este un valor mayor a los cuantificados. Esta prueba revela con un p value =0.002 que no existe diferencia significativa entre las concentraciones de Diazinon en todas las muestras y que sus valores están por debajo de los límites permisibles significativamente.

El Clorpirifos fue detectado en 5 muestras con niveles residuales por debajo de los LMR de 2.0 ppm para este plaguicida. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre el valor de LRM y las concentraciones de Clorpirifos con p value =0.022. Determinando que los valores de Clorpirifos no alcanzan ni superan el valor de LMR, por tanto, está dentro de los límites permisibles.

“Los plaguicidas organofosforados son neurotóxicos, y tienen diversos efectos tóxicos en diferentes regiones del cerebro, (se incrementa el peso o tamaño), siendo la población infantil la de mayor sensibilidad” (Murcia & Stashenko, 2008)

Benítez et al (2015) reportaron la detección de ocho plaguicidas que en la cáscara de papa entre los que destacan a metamidofos (5,0 mg·kg⁻¹), clorpirifos (7,3 mg·kg⁻¹) y diazinon (11,8 mg·kg⁻¹) en concentraciones por encima del límite máximo residual (LMR) establecidos por el Codex Alimentarius, en la porción interna del tubérculo detectaron residuos de cinco plaguicidas considerados potentes neurotóxicos y disruptores endocrinos entre estos, clorpirifos (13 mg·kg⁻¹), diazinon (5,2 mg·kg⁻¹) y metamidofos (4,5 mg·kg⁻¹), todos con valores por encima del LMR. Resaltan que clorpirifos y diazinon fueron detectados en concentraciones extremadamente altas en el interior del tubérculo, recomendando eliminar la cáscara antes de consumir o procesar la papa, debido a que en el interior del tubérculo casi todos los plaguicidas disminuyen su concentración y la frecuencia de detección, resultados que demuestran que existe un uso inadecuado de plaguicidas en cultivos de papa que podría afectar negativamente la calidad del tubérculo y poniendo en riesgo la salud de los consumidores en el marco de la seguridad alimentaria.

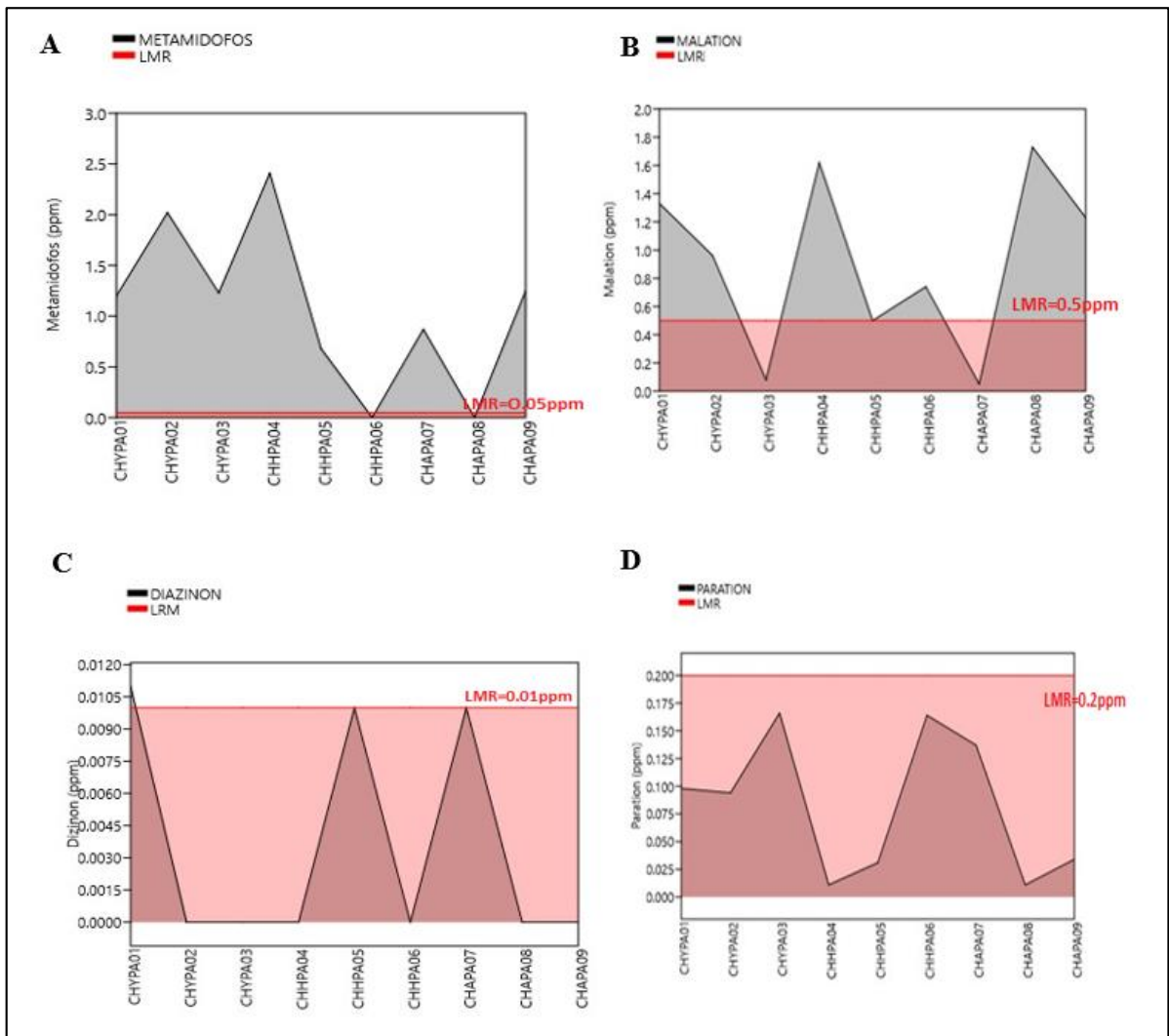


Figura 10. Cuantificación Plaguicidas Organofosforados Residuales en Papa comparados con los LMR.

A: Concentración de Metamidafos. B: Concentración de Paration.

C: Concentración de Diazinon. D: Concentración de Malation

El análisis de plaguicidas residuales organoclorados en relación a los Límites residuales (LMR) establecidos por el *Codex Alimentarius* (*Codex website*) se presentan en la Figura 11. El Clorotalonil (Figura 11 A) es un plaguicida detectado en el total de las muestras con 8 muestras por encima de los LMR (0.01ppm), los niveles de este plaguicida superan entre 3 a 31 veces los LMR, siendo el valor más alto 0.314 para la muestra CHYPA02 que corresponde a la variedad Cica cultivada en la comunidad Yanacona. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con $p \text{ value} = 0.00083$, determinando que las concentraciones de Clorotalonil en casi todas las muestras están por encima de los límites permisibles significativamente. El Clorotalonil puede causar irritación a la piel y a las membranas mucosas de los ojos y cuando entra en contacto con el tracto respiratorio. Se han informado casos de dermatitis alérgica debido al contacto es difícilmente absorbido a través de la piel y la capa gastrointestinal. No se han informado casos de envenenamiento sistémico en humanos. (ATSDR, 2016).

El Heptacloro (Figura 11B), también ha sido detectado en el total de las muestras con valores que superan los LMR (0.01ppm), siendo la muestra CHAPA09 que corresponde a la variedad Compis cultivada en la comunidad de Ayllopongo la que presenta el valor más alto de 0.032 ppm. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con un $p \text{ value} = 0.0022$ demostrando que las concentraciones de Heptacloro en todas las muestras están por encima de los límites permisibles significativamente. Se ha reportado que el Heptacloro es metabolizado por los animales en epóxido de Heptacloro, con una toxicidad parecida que se acumula en tejido graso. Ambos tanto el Heptacloro como el epóxido de Heptacloro, pueden presentar efectos nocivos por exposición a largo plazo o por dosis elevadas, dañando el hígado y el sistema nervioso central en personas y animales. El heptacloro está clasificado como posible carcinogénico para humanos. La presencia de Heptacloro puede evidenciar la existencia de Clordano ya que este último es metabolizado en Heptacloro y epóxido de Heptacloro (ATSDR, 2016).

El Endosulfan, (Figura 11 C) es otro plaguicida residual detectado en el total de muestras con valores que superan los LMR de 0.05ppm, siendo el valor más alto 0.134ppm para la

muestra CHYPA02 que corresponde a la variedad Cica cultivada en la comunidad de Yanacona. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con $p=0.00027$. Lo que quiere decir que las concentraciones de Endosulfan en todas las muestras están por encima de los límites permisibles significativamente. El Endosulfan tiene categoría por su toxicidad en II Moderadamente peligroso (OMS) y como I Altamente tóxico (EPA). Produce síndrome tóxico por organoclorados, nocivo en contacto con la piel y muy tóxico por inhalación y por ingestión a largo plazo puede producir neurotoxicidad (ATSDR, 2016).

El Diclorvos, (Figura 11D) fue detectado en 4 muestras, pero con valores que están por debajo del LMR de 0.01ppm. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre el valor de LRM y las otras concentraciones de Diclorvos con $p=5.41-5$. Lo que se traduce en los valores de Diclorvos no alcanzan ni superan el valor de LRM, por tanto, está dentro de los límites permisibles.

La presencia de los plaguicidas OC en tejidos de diferentes organismos están relacionados directamente con la exposición de éstos a los compuestos, a través de las diferentes vías de entrada; en particular en la gastrointestinal, su absorción es lenta y aumenta en presencia de grasas y aceites. Se ha determinado que existen factores nutricionales que tienen influencia, y pueden ser determinantes en la toxicidad de los organoclorados; tal es el caso de la deficiencia proteica, puesto que se ha observado que estos compuestos reducen la actividad de las enzimas microsomales, con disminución de los procesos en las que participan estas enzimas y en su capacidad de detoxificación. El uso del DDT se prohibió en Estados Unidos en el año 1972; sin embargo, debido a sus características químicas, ha permanecido en el ambiente; y bajos niveles de DDT pueden estar presentes en los alimentos (frutas, verduras, carne, pescado y leche), por muchos años. (Zaragoza, et al. 2016). A través del consumo de alimentos y bebidas que pueden estar

contaminados con pequeñas cantidades de DDT mucha gente ha estado expuesta al DDT y a sus productos de degradación.

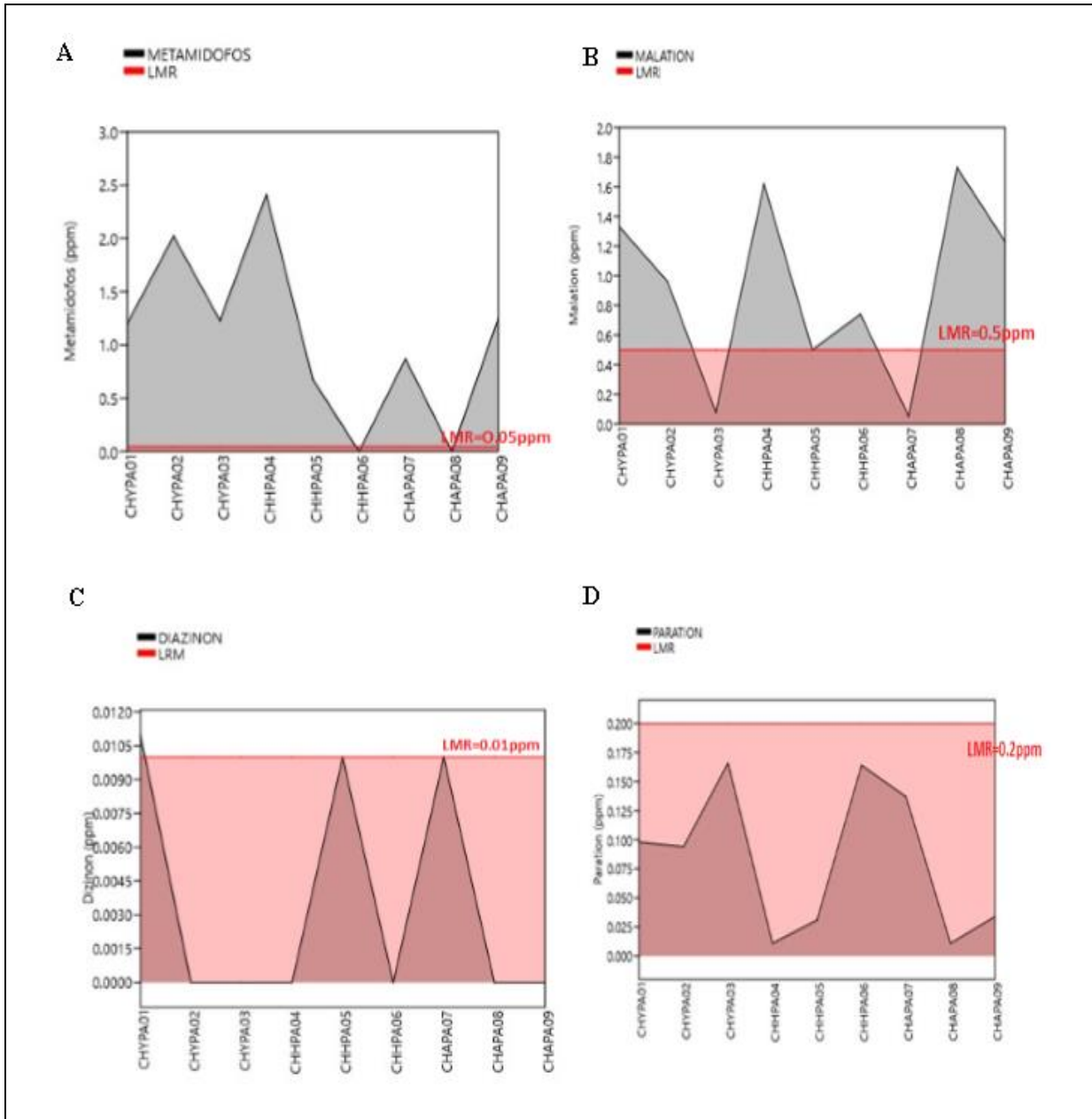


Figura 11. Cuantificación Plaguicidas Organoclorados Residuales en Papa comparados con los LMR.

A: Concentración de Clorotanilil. B: Concentración de Heptacoloro.
 C: Concentración de Endosulfan. D: Concentración de Diclorvos

Los plaguicidas organoclorados aumentan el metabolismo de las hormonas de estructura similar a la de la vitamina D, y se ha demostrado que podrían acelerar el metabolismo de esta vitamina, y afectar la absorción de calcio en el tracto gastrointestinal; lo cual tiene gran importancia para los neonatos, ya que la vitamina D y el calcio favorecen la formación de la estructura ósea. La particularidad química de los clorados permite explicar su fisiopatología en el hombre, por su afinidad a las grasas, ejerciendo su acción sobre el sistema nervioso central principalmente y depositándose en tejido graso, donde permanece por tiempo prolongado (Zaragoza-Bastida, y otros, 2016)

Pese a que el uso de la mayoría de los plaguicidas organoclorados, está prohibido en América del Sur desde 1990, se usaron intensamente entre 1950 y 1990, en diversos estudios de trabajos publicados a lo largo de los últimos 20 años se halló, que siguen presentes en ambientes terrestres, costeros y marinos, incluso en altas concentraciones, se estimó que estas sustancias podrían permanecer por décadas en concentraciones ambientalmente perjudiciales

4.1.3. Determinación de Riesgo Alimentario

Los resultados del análisis de plaguicidas residuales revelaron que, si existen diferencias significativas entre los LMR y los plaguicidas detectados, en base a estos resultados se procedió a la determinación de riesgo alimentario en el consumo de papa, se realizó el análisis de los valores de cada hallazgo aplicando cada uno de los pasos de la evaluación de riesgos para generar una sola estimación de riesgo (Guía FAO/OMS, 2007).

Según la dosis, un mismo producto químico puede presentar diferentes efectos, en una persona, es importante también considerar la vía por la cual se produce la exposición, que puede ser por inhalación, ingestión o inyección.

Según estudios científicos de los efectos potenciales para la salud, los plaguicidas, se pueden clasificar, en teratógenos, cancerígenos, o neurotóxicos. Se denomina a este proceso de clasificación, como “identificación de los peligros” es el primer paso en la “evaluación de los riesgos”, siendo importante, la clasificación de las sustancias carcinogenéticas para los seres humanos, realizada por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC), el organismo de la OMS especializado en el cáncer (OMS,2016).

La evaluación de los riesgos de los residuos de plaguicidas en los alimentos, planteada por la Reunión Conjunta FAO/OMS sobre Residuos de Plaguicidas, establece un nivel de ingesta seguro. Los gestores internacionales de riesgos como la Comisión del Codex Alimentarius, y los gobiernos, utilizan la ingesta diaria admisible – IDA, para establecer los límites máximos de residuos de plaguicidas en los alimentos-LMR. Las autoridades de cada país, en el marco de la seguridad alimentaria, se encargan de hacer cumplir estos límites máximos, para que la cantidad de plaguicidas residuales en los alimentos, no tenga efectos perjudiciales a lo largo de su vida para su salud (OMS, 2016)

Previamente a la caracterización de los riesgos (Tabla 5), se calculó la ingestión diaria máxima teórica de residuos de un plaguicida (IDMT) para los habitantes de Cusco (IDMT_{exp}): $IDMT_{exp} = LMR \times C$ (mgc/kg. Día), el valor mgc: corresponde a los valores de la media del plaguicida residual detectado en papa, se considera que el promedio de consumo de papa per cápita por año de acuerdo al INEI (2017), es de 85 kg por habitante al año, representando un consumo de 0.23k/día/habitante. Por otra parte, para determinar el valor de C se asume que: 1. Todos consumen papa; 2. Todas las papas poseen un Plaguicida Residual (PR), y 3. El peso promedio/persona es de 60kg (FAO/OMS, 2007).

Tabla 5

Determinación de la Ingesta Diaria Máxima Teórica de Residuos de un Plaguicida (IDMTExp)

PLAGUICIDA	MEDIA PR	LMR		IDMTEXP
RESIDUAL	ppm	Codex	$0.23 * LMR * MEDIA PR$	IDMT/60
PARATION	0.08288889	0.02	0.000381289	6.3548E-06
METAMIDOFOS	1.38	0.05	0.01587	0.0002645
MALATION	0.91555556	0.5	0.105288889	0.00175481
DICLORVOS	0.006	0.01	0.0000138	0.00000023
CLOROTANOLIL	0.199875	0.01	0.000459713	7.6619E-06
HEPTACLORO	0.01866667	0.01	4.29333E-05	7.1556E-07
ENDOSULFAN	0.09266667	0.05	0.001065667	1.7761E-05

* = consumo de papa en Kg/persona/día (0.23) INEI, (2017)

Nota: PR: media de plaguicidas residuales detectado

LMR: Límite Máximo Residual (*Codex alimentarius*)

Para la determinación de riesgo alimentario de plaguicidas residuales en papa (tabla 6), los valores de plaguicida residual que se encontraron por encima del Límite Máximo Residual (LMR) fueron sometidos a una evaluación puntual donde el valor experimental (IDMTExp) se comparó con la IDA (WHO, 1997).

El análisis de riesgo se realizó utilizando el “criterio de evaluación por bandas porcentuales” Castilla, Álvis y Álvis (2010). Se determinó que la media de los residuos de Metamidafos hallados en papa fue de 1.38 ppm y al calcular el riesgo alimentario se obtuvo un valor de 6.6125 correspondiendo de acuerdo al criterio de evaluación de bandas como no aptos para el consumo humano ya que presentan un Riesgo Alto. Se estimó para Malation un valor de 0.58 que representa un Riesgo Medio y Paration (0.2) presentó un Riesgo Bajo. El Clorotanolil

(0.3), fue el residuo organoclorado con Riesgo Medio. Los plaguicidas Diclorvos, Heptacloro y Endosulfan presentaron Riesgo Bajo.

Es importante resaltar que Metamidofos (insecticida OF), es un plaguicida de acción sistémica (Murcia y Stashenko, 2008) que penetran a la planta a través de la raíz, por lo tanto no sorprende encontrarlo en la papa, estos resultados también podrían sugerir que la aplicación de este producto fue continuo y en dosis elevadas y que además no se esperó el tiempo suficiente, después de la fumigación, para que este plaguicida sistémicos fuera eliminado por el metabolismo de la planta y así poder alcanzar los niveles permisibles antes que el tubérculo sea cosechado.

Frente a las medidas de prohibición y/o restricción de muchos productos y el incremento de costos de inversión para introducir los nuevos agroquímicos en el mercado de los países desarrollados, las multinacionales exportan al Tercer Mundo aquellos agrotóxicos, siendo estos productos, los plaguicidas prohibidos o sin registro interno que ocasionan daños a la salud y al ambiente. Esta comercialización infame de las empresas transnacionales, con el aval de los países productores y la de muchos gobiernos de los países del Tercer Mundo, provoca graves daños en el ambiente y la salud de las poblaciones.

En los países subdesarrollados lamentablemente, autoridades y técnicos aplican y adoptan, sin análisis y discusión, l tecnologías que generan secuelas graves de deterioro ambiental y social. Y solo tiempo después, aun a pesar de que estos productos internacionalmente son prohibidos, se dictan medidas de prohibición y/o restricción de ciertos productos como es el caso del Metamidafos que por Resolución Jefatural N°307-2011-AG-SENASA, el Ministerio de Agricultura (MINAG) dio a conocer en octubre de 2011, la cancelación de registros de plaguicidas químicos de uso agrícola por contener elementos altamente tóxicos. Señalan que los productos prohibidos para su uso en el mercado son aquellos que

poseen como ingredientes activos los compuestos: Aldicarb, Alaclor, Metamidafos, Arseniato de plomo (grupo de arsenicales), Endosulfán, Paraquat, entre otros (MINAG, 2011). El MINAG sustenta la decisión adoptada, en el informe de análisis técnico científico de riesgo ambiental elaborado por el personal de la Dirección General de Asuntos Ambientales Agrarios (DGAAA) del MINAG en cumplimiento a la normatividad supranacional y nacional. Esta medida señala que es para salvaguardar la salud de los trabajadores del campo, público consumidor y el ambiente, puesto que se ha demostrado que dichos ingredientes activos representan sustancias extremadamente peligrosas para el ambiente, y como se transportan a grandes distancias, son bioacumulables y muy solubles, y que podrían desencadenar un elevado grado de contaminación en contacto con el suelo y el agua. Asimismo, se tratan de productos extremadamente tóxicos para abejas, lombriz de tierra, y organismos acuáticos vertebrados e invertebrados (MINAG, 2011).

Tabla 6

Determinación de Riesgo Alimentario de Plaguicidas Residuales en Papa Cultivada

PLAGUICIDA RESIDUAL	MEDIA PR ppm	LMR Codex	IDA* FAO	IDMTEXP	(IDMTEXP/ (IDA)*(100)	RIESGO**
PARATION	0.08288889	0.02	0.004	6.3548E-06	0.2	BAJO
METAMIDOFOS	1.38	0.05	0.004	0.0002645	6.6125	ALTO
MALATION	0.91555556	0.5	0.3	0.00175481	0.58	MEDIO
DICLORVOS	0.006	0.01	0.004	0.00000023	0.00575	BAJO
CLOROTANOLIL	0.199875	0.01	0.003	7.6619E-06	0.3	MEDIO
HEPTACLORO	0.01866667	0.01	0.001	7.1556E-07	0.072	BAJO
ENDOSULFAN	0.09266667	0.05	0.05	1.7761E-05	0.036	BAJO

*IDA/FAO <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codextexts/dbs/pestres/pesticides/es/>

**Valores Riesgo Alimentario: < 0,3: Riesgo Bajo; entre 0.3 y 1: Riesgo Medio; > 1 Riesgo Alto o Inaceptable. Castilla, Álvis y Álvis (2010)

Nota: IDMTEXP: Ingesta Diaria Máxima Teórica de Residuos de un Plaguicida

LMR: Límite Máximo Residual (*Codex alimentarius*)

En la actualidad, en ninguna legislación relacionada con la seguridad alimentaria, se integra, la detección de múltiples plaguicidas residuales en un mismo alimento, lo que significa que todavía no se han identificado los posibles factores de riesgo a nivel de la OMS/OPS, *Codex alimentarius* y de las Comisiones Europeas que regulan estos temas (*Codex Alimentarius*, 2017)

Los plaguicidas, debido a su efecto persistente, tienen una clara influencia en el ambiente con efectos acumulativos sobre el campo y sobre los propios alimentos. Se prevén resultados de evaluación de riesgos químicos por presencia simultánea de plaguicidas a mediano plazo y, en base de las conclusiones de estos análisis, se desarrollará como consecuencia, las normas legales relacionados con la restricción de su uso o disminución de los límites máximos admisibles (*Codex Alimentarius*, 2017).

4.2. Determinación de Riesgo Ambiental

4.2.1. Identificación y Caracterización de Toxicidad en Suelo

La Tabla 7 y Figura 18, se elaboró en base a los resultados obtenidos en la determinación de los plaguicidas en las muestras de suelo provenientes del distrito de Chinchero (Anexo 5 y Anexo 6), en el que se observa que, de los 10 plaguicidas analizados 06 fueron detectados, siendo estos los organoclorados (OC) Heptacloro, Clorotalonil y Endosulfan, y los organofosforados (OF) Malation, Metamidofos y Paration; resultados que evidencian el poder persistente de los OC que a pesar que son de uso prohibido desde hace más de una década en el país se encuentran aún residuos de los mismos aun cuando se reporta que el tiempo de persistencia de los OC es de 2-5 años, así mismo se detectó algunos OF a pesar que estos tienen una baja persistencia de 7-8 semanas. El término, persistencia, define el tiempo que un plaguicida permanece en el suelo manteniendo su actividad biológica. Dependiendo de la toxicidad del plaguicida y de su biodisponibilidad Las consecuencias de la persistencia pueden ser muy importantes (Sánchez Martín & Sánchez Camazano, 1984)

En los últimos años en el Perú se empezó a dar importancia a la protección y conservación del recurso suelo, en el año 2013 se publicaron los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelos, sin embargo, dicha Resolución Ministerial contemplaba ECA para suelo agrícola para 4 plaguicidas organoclorados: DDT, Heptacloro, Endrín y Aldrín, pero no contemplaba ECA para plaguicidas OF. Sin embargo, a la fecha los ECA han sido modificados y no consideran valores para ningún tipo de plaguicida. (Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM). Por estas razones se utilizó los estándares de calidad de suelo agrícola de Canadá, obteniendo los valores referenciales para cada uno de los plaguicidas detectados en las muestras de suelo analizadas.

El Metamidofos (Fig. 13A), fue detectado en el total de las muestras, se encontró que el valor más alto (1.45ppm) corresponde a la muestra CHASU09 en la comunidad de Aylopongo, mientras que el valor más bajo detectado (0.68ppm) corresponde a la muestra CHHSU05 en la comunidad de Huaypo. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre el valor de cada muestra y el ECA internacional con $p=0.0068$, indicando que las concentraciones de Metamidafos en todas las muestras están significativamente por encima de los límites permisibles. Quispe (2017) reportó la presencia de este plaguicida en suelos de papa cultivada en la comunidad de Yanacona evaluadas a dos meses después de la última aplicación del producto, con valores entre 0.03 a 1.9 ppm, lo que refleja una contaminación del recurso suelo por este plaguicida.

Los valores detectados de Metamidafos, están por encima de los ECAs contradiciendo lo reportado por Ramírez et. al. (2008) quienes señalan que este plaguicida en el suelo es poco persistente y es altamente móvil, ya que es adsorbido por el suelo en pequeñas cantidades y que

además dada la rapidez de la degradación de la sustancia y alta movilidad, se lixivia en las capas del suelo, teniendo un valor de vida de 1.9 días en limo, hasta 10 a 12 días en suelo franco arenoso. Estos resultados, son probablemente debido a que el Metamidafos es, un plaguicida de aplicación continua por parte de los agricultores en las diferentes comunidades de Chinchero-Cusco. Por lo que existe acumulación del mismo. El Metamidafos a pesar de ser un plaguicida prohibido en el país, se sigue comercializando y utilizando ampliamente, probablemente debido a que, en otros países como Bolivia es de venta restringida y puede ser ingresado por la frontera sin mayor control. Los valores elevados pueden ser resultado de una aplicación frecuente y en mayor dosis de estos plaguicidas lo que facilita su acumulación en el recurso suelo, además de que las texturas de los suelos del lugar favorecen su adherencia a partículas del suelo y su persistencia en el ambiente.

Tabla 7

Concentración de plaguicidas residuales y Estándar Internacional de Calidad Ambiental-ECA en Muestras de Suelos procedentes de tres Comunidades de Chinchero-Cusco.

PLAGUICIDA ppm	Muestra									ESTANDAR*
	CHYPA01	CHYPA02	CHYPA03	CHHPA04	CHHPA05	CHHPA06	CHAPA07	CHAPA08	CHAPA09	INTERNACIONAL
PARATION	0.01	0.05	0.07	0.09	0.04	0.11	0.04	0.09	0.06	0.37
METAMIDAFOS	1.2	0.95	1.23	1.41	0.68	1.36	0.83	0.92	1.45	0.003
MALATION	1.33	1.96	2.78	1.62	1.5	2.74	1.25	1.73	2.23	1.2
DIAZINON	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.55
CLORPIRIFOS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.18
DICLORVOS	<0.003	<0.003	0	0	<0.003	<0.003	0	<0.003	0	0.017
HEPTACLORO	0.013	0.022	0.016	0.015	0.014	0.023	0.015	0.018	0.032	0.11
ENDOSULFAN	0.079	0.134	0.106	0.096	0.064	0.073	0.084	0.101	0.097	0.37
DDT	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.39
CLORATONOLIL	0.181	0.414	0.325	<0.003	0.343	0.147	<0.003	<0.003	<0.003	0.44

Nota: *Estándar Internacional Canadá: <http://www.esdat.net/Environmental%20Standards/Canada/BC/Sch10.htm>

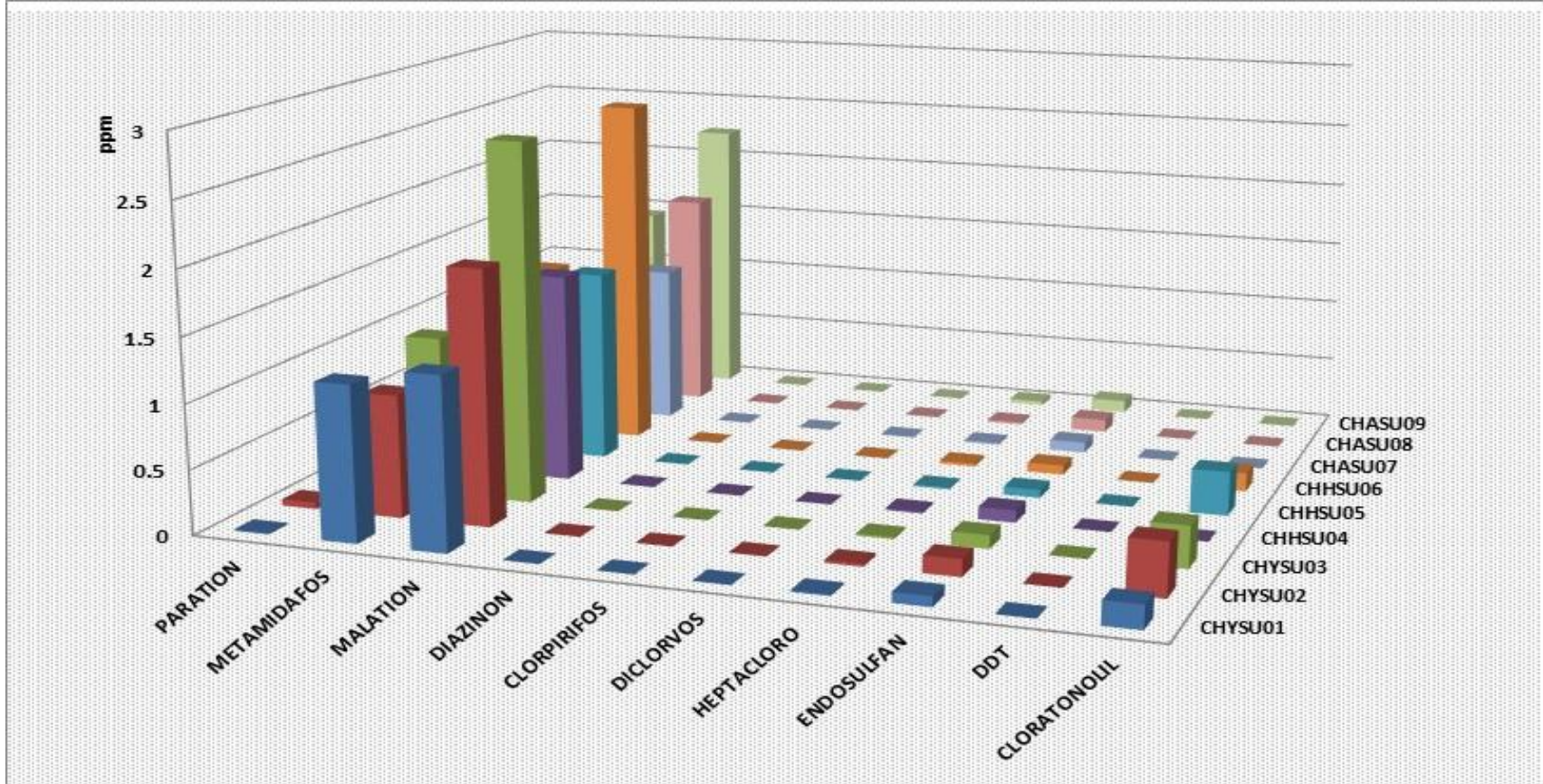


Figura 12. Concentración de Plaguicidas Residuales Organofosforados y Organoclorados en Muestras de Suelos procedentes de Tres Comunidades de Chinchero-Cusco

El Malation (Figura 13B), está presente en mayor concentración en la totalidad de muestras por encima del límite permitido de acuerdo a los estándares internacionales (1.2 ppm), insecticida acaricida categorizado como moderadamente tóxico de amplio uso, cuya venta en el país es legal. El valor más alto detectado de 2.78 ppm corresponde a la muestra CHYSU03. Este plaguicida es poco persistente en suelo con una vida media de 1 a 25 días, siendo su velocidad de degradación dependiente del contenido de materia orgánica y del grado de adsorción a las partículas y puede constituir un riesgo de contaminación para las aguas subterráneas en sitios donde las condiciones no favorezcan su degradación (Bianchi, 2015). La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con $p=0.0060$, determinando así, que las concentraciones de Malation en todas las muestras están por encima de los límites permisibles significativamente.

El Paration, (Figura 13C), en todos los casos los valores hallados se encuentran por debajo de los límites permitidos por los ECAs internacionales, resultados que difieren a lo reportado por Quispe, (2017) quien reporta valores que oscilan entre 0.68 y 3.02 ppm en estudios de suelo de la comunidad de Yanacona-Chincheró. La prueba de T-student demuestra que existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el ECA con $p=2.05-15$, evidenciando que las concentraciones de Paration están por debajo de los límites permisibles por los estándares internacionales.

El Paration, es un insecticida categorizado como extremadamente tóxico, de venta prohibida en el Perú por R.J. N° 131-98-AG-SENASA, se mezcla fuertemente a las partículas del suelo y normalmente quedan en los últimos 15 cm superficiales del mismo, el tiempo de vida media del Paration oscila entre 3-6 semanas, pero sus residuos son detectables hasta 16 años después de su aplicación.

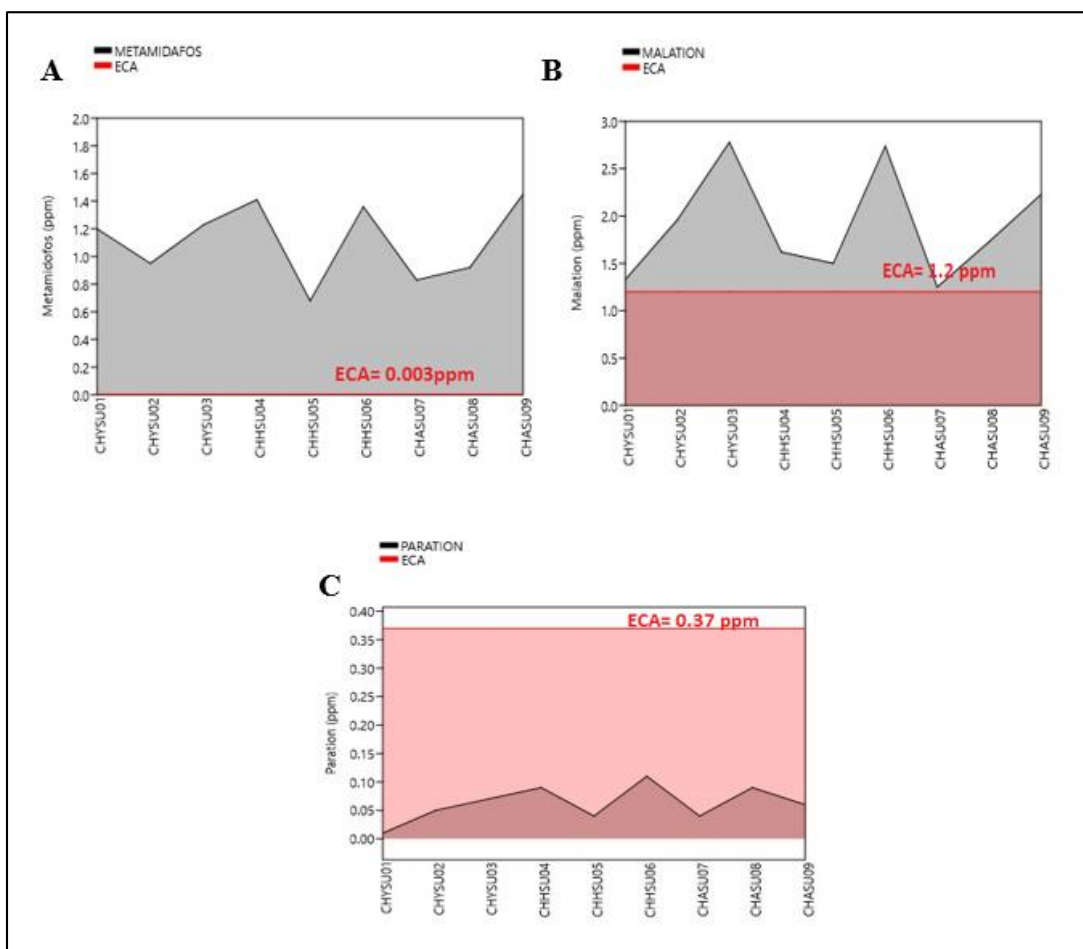


Figura 13. Cuantificación Plaguicidas Organofosforados Residuales en Suelos de cultivo de papa comparados con los ECA Internacional.

A: Concentración de Metamidafos. B: Concentración de Malation. C: Concentración de Paration.

La razón por la cual el Malation, y Metamidofos fueron encontrados en mayor concentración en los suelos agrícolas de Chinchero, puede ser debido probablemente, a que la adsorción de plaguicidas por los coloides del suelo pueden modificar: su actividad (inactivándolos, no pudiendo ejercer su efecto tóxico), su persistencia (la aumenta cuando estas partes son desadsorbidas, entran de alguna forma en la cadena trófica y pueden ser nocivos a organismos diferentes a aquellos para los que había sido destinado) y su degradación (en algunos casos

impidiéndola o retrasándola); además, las fracciones de plaguicidas que son adsorbidas o retenidas por los coloides presentes en el suelo (arcilla y materia orgánica) disminuyen su concentración en el mismo, estableciéndose un equilibrio entre las concentraciones de materia activa disuelta y adsorbida (Sánchez y Sánchez, 1984). En el suelo es moderadamente persistente (vida media de 50 días), sobre todo a pH ácido, y la fracción adsorbida a las partículas puede persistir por años y es poco propensa a lixiviarse hasta las aguas subterráneas, además que si se adhiere a partículas en el suelo puede demorarse años en degradarse completamente (Yuquan et. al., 2000), ésta probablemente sería la razón por la cual aún se encontró residuos de este insecticida en las muestras analizadas.

Los resultados de la cuantificación de plaguicidas residuales organoclorados en suelos muestran la presencia de Endosulfan (Figura 14A) en 05 muestras con valores por encima de los límites establecidos por los ECAs, siendo el valor más alto de 0.556 ppm para la muestra CHASU08, la prueba de T-student demuestra que no existe una diferencia significativa entre los valores de cada muestra y el LMR con $p=0.060$, lo que quiere decir que las concentraciones de Endosulfan en casi todas las muestras no tienen diferencia significativa con los valores de los estándares de calidad ambiental comparados. Es un plaguicida cuya venta está prohibida en el país desde el año 2001, el SENASA en el año 2012 prohibió la comercialización del mismo mediante la R.J. 013-2012-AG- SENASA, debido a ser categorizado como insecticida altamente tóxico y Compuesto Orgánico Persistente (COP).

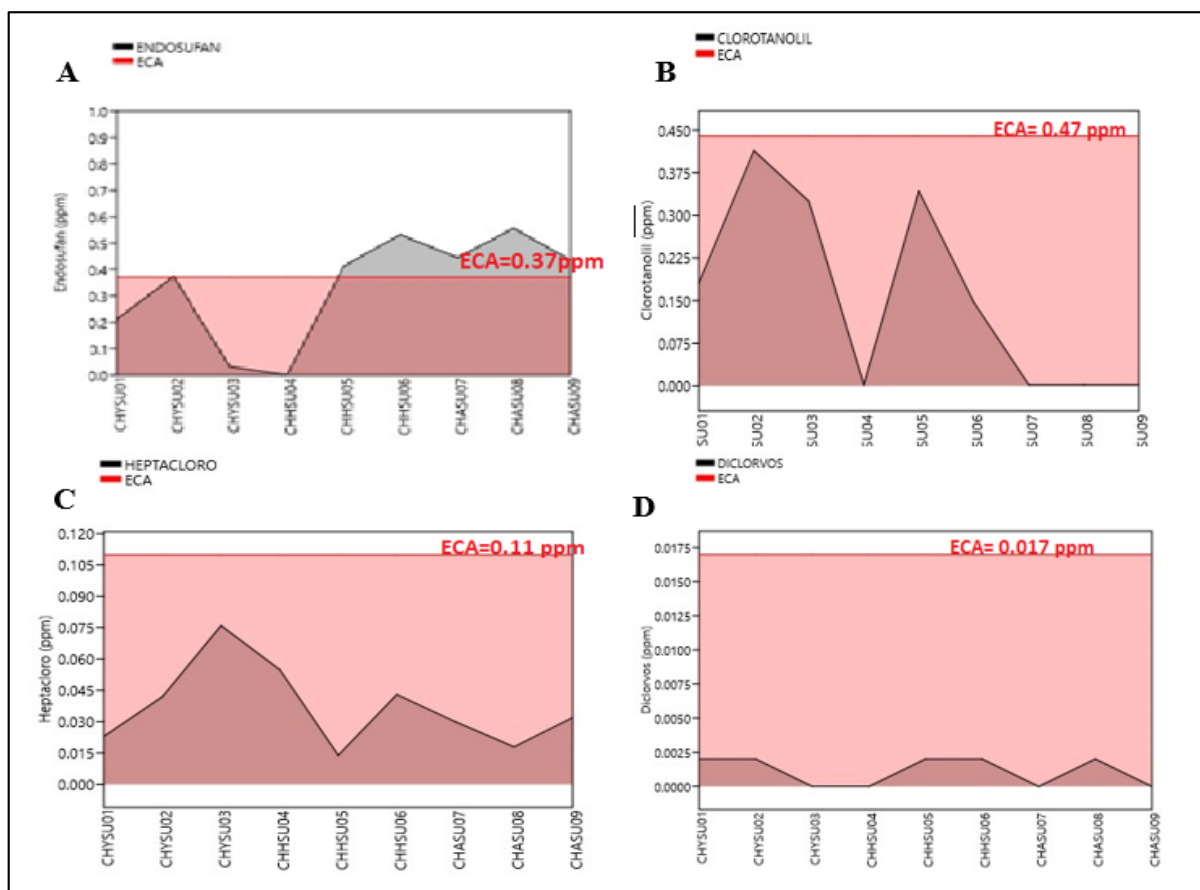


Figura 14. Cuantificación Plaguicidas Organoclorados Residuales en Suelos de cultivo de papa comparados con los ECA Internacional.

A: Concentración de Endosulfan. B: Concentración de Clorotalonil.
 C: Concentración de Heptacloro. D: Concentración de Diclorvos.

El Clorotalonil, (Figura 14b) fue detectado en algunas de las muestras, pero con valores por debajo de los límites establecido por los ECAs utilizados. El Clorotalonil, es un fungicida organoclorado moderadamente tóxico usado para combatir la racha de la papa (causado por el hongo *Phytophthora infestans*). La prueba de T-Student demuestra que existe una diferencia significativa entre el valor de los ECAs y las otras concentraciones de Clorotalonil con $p=0.0009$, por lo tanto, los valores de Clorotalonil no alcanzan ni superan el valor de los límites permisibles.

Los plaguicidas organoclorados, Heptacloro Diclorvos (Fig. 14C y 14D) y DDT fueron determinados con valores <0.003 ppm en algunos casos o no fueron detectados. La prueba de T-Student demuestra que existe una diferencia significativa entre el valor de los ECAs y las concentraciones de Diclorvos con $p=6.31-11$, Heptacloro con $p=3.65-6$, DDT con $p=4.97-22$, por lo que se puede afirmar que estos valores están por debajo de los límites permisibles de los estándares de calidad ambiental.

El dicloro difenil tricloroetano conocido como DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano) y el Heptacloro son insecticidas organoclorados clasificados como extremadamente tóxicos, que están prohibidos en el Perú por D.S. N° 037-91-AG (1991). El DDT y Heptacloro se identifican como insecticidas de alta persistencia, en esta investigación se detectaron aún residuos de estos plaguicidas en los suelos después de 24 años de su prohibición.

Los plaguicidas organoclorados (OC) son un caso especial de contaminantes, ya que son sustancias químicas que se dispersan en el ambiente; sin embargo, al trasladarse a sitios alejados del punto de aplicación, o persistir después de cumplir su función, se convierten en contaminantes. Estos compuestos tienen la capacidad de permanecer en un sustrato particular del ambiente, después de haber cumplido el objetivo por el cual se aplicó. Con base en su tiempo de vida media; es decir, el tiempo para que se degrade la mitad del compuesto aplicado, los plaguicidas pueden ser no persistentes, moderadamente persistentes, persistentes y permanentes. Los compuestos organoclorados se encuentran en la categoría de persistentes, ya que su promedio de degradación media ocurre en aproximadamente 5 años (ATSDR, 2016).

4.2.2. Efecto Toxicológico de los Plaguicidas Metamidafos y Clorotanolil Mediante Bioensayos

4.2.2.1. Efecto letal de plaguicidas evaluados por la inhibición de germinación en *Vicia faba*.

El uso indiscriminado de los plaguicidas, ha generado, especialmente a largo plazo, numerosos problemas ambientales, a diario todas las especies están expuestas a dosis desconocidas de plaguicidas; el hombre, creador y víctima, no está exento de contaminarse con plaguicidas, y aunque el organismo pueda tolerar algunos niveles de contaminantes no se puede desconocer los efectos crónicos que estos pueden producir, principalmente los plaguicidas organofosforados que ejercen una acción sistémica sobre las especies expuestas (insectos, mamíferos y el hombre) (Murcia & Stashenko, 2008).

“Las buenas prácticas agrícolas, permiten que la entrada de los plaguicidas en el ambiente ocurra bajo condiciones controladas, sin embargo, cuando no se siguen estas condiciones, se presentan efectos perjudiciales para el ambiente y para las especies expuestas” (Murcia & Stashenko, 2008).

Mientras los plaguicidas con acción sistémica (gases depositados o partículas de materia) penetran justo a través de la cutícula, y son transportados alrededor de la planta, sustancias cuasi-sistémicas (insecticidas, fungicidas) exhiben solamente un movimiento interno local en las ceras cuticulares, exhibiendo acción persistente de contacto. Algunas sustancias permanecen después del tratamiento como depósitos superficiales que poseen solamente acción local de contacto (Peña et al, 2001).

Los resultados generales obtenidos de las 450 semillas de habas y distribuidas en un grupo control y 14 concentraciones de progresión geométrica del plaguicida Metamidafos y Clorotanolil (rango = 7.81 a 4 000 ppm; con un número de 30 semillas por cada concentración (n = 30) se muestran en el Anexo 7 y Anexo 8.

La figura 15, muestra el efecto letal de los plaguicidas Metamidafos y Clorotanolil en la inhibición de la germinación (IG) de *V. faba*, el efecto toxico, se observó a partir de la concentración de 15,63 ppm con un 10,0% de inhibición de germinación, comportamiento similar en ambos tratamientos, mostrando diferencias del efecto a partir de la concentración de 31.25 ppm siendo de 16,67% para Metamidafos y de 20,0% para Clorotanolil, alcanzando valores de 83,33% de IG a la máxima concentración evaluada de 4000 ppm en ambos plaguicidas (Figura 15A y 15B), se determinó que hubo diferencias significativas entre concentraciones (p valor <0.0000), estableciendo que las diferentes concentraciones de Metamidafos y Clorotanolil producen efectos distintos en los organismos de prueba. El valor de Sig < 0.05 , determina que se acepta la H_a (las diferentes concentraciones ocasionan un efecto diferente en nivel sobre la germinación de Vicia faba).

En las evaluaciones de toxicidad de los plaguicidas los resultados obtenidos (% de inhibición de germinación) deben transformarse a logaritmo ya que la Ley de Weber y Fechner señala que el cambio en intensidad o magnitud de una respuesta biológica es proporcional no al cambio aritmético en el estímulo, sino que a su logaritmo. Al transformar la dosis a la función logarítmica (Log_{10}) la respuesta se vuelve una línea sigmoide asimétrica por lo que para obtener una línea recta es necesario transformar la respuesta a Unidades Probit. (Sánchez et al, 2000). Las figuras 15C y 15D muestran la Relación Dosis-Respuesta de Metamidafos y Clorotanolil respectivamente.

“Probit es una palabra que viene de la contracción de *probability unit*, que son unidades de desviación estándar incrementadas en cinco con la finalidad de evitar el uso de números negativos” (Finney, 1971)

Una de las etapas más importantes del desarrollo de una planta es la germinación, en la germinación ocurren cuatro procesos: a) la imbibición o toma física de agua, b) el inicio de la síntesis de proteínas y de RNA y la formación de los sistemas enzimáticos, c) la emergencia de la radícula y d) la iniciación del crecimiento. La activación de la semilla es inhibida ante la presencia de sustancias tóxicas, que afectan su germinación. La división celular de los meristemas radiculares puede afectarse, ya sea por retardo en el proceso de mitosis o alteración en el proceso de alargamiento radicular, por lo que la fitotoxicidad de un compuesto puede ser determinada a través de la medición de la germinación de semillas (EPA Environmental Protection Agency, 2002).

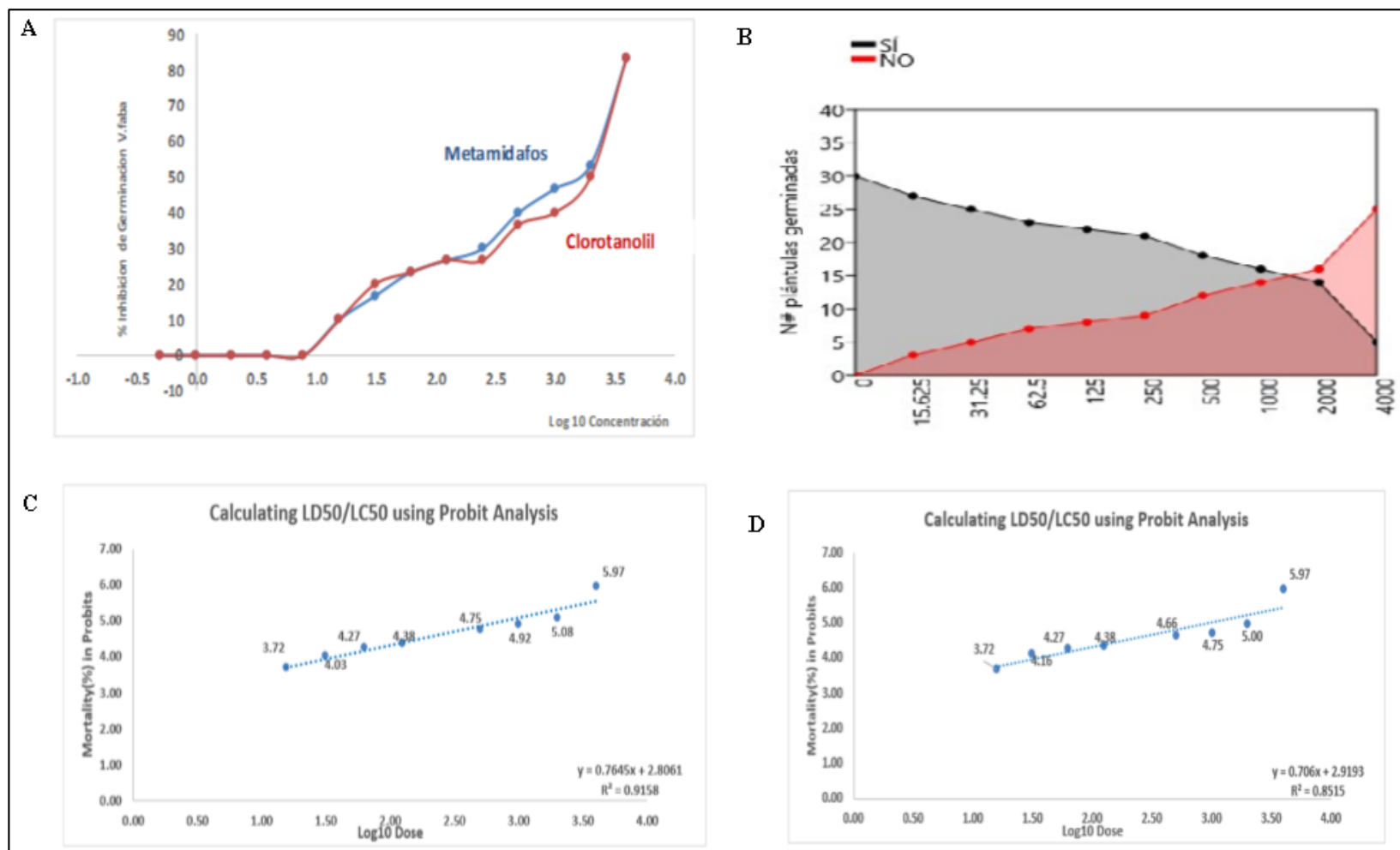


Figura 15. Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanilil en la Inhibición de Germinación (IG) de *Vicia faba*

A: Porcentaje de IG de *V. faba*. B: Distribución de Semillas Germinadas y No Germinadas por efecto de Metamidafos.

C: Dosis-Respuesta Metamidafos en *V. faba*. D: Dosis-Respuesta Clorotanilil en *V. faba*.

4.2.2.2. Efecto Sub-Letal de Plaguicidas Evaluados por Inhibición de Crecimiento Radicular en *Vicia faba*

La inhibición del crecimiento radicular (ICR), de *Vicia faba* por efecto de los plaguicidas Metamidafos y Clorotanilil se presenta en la Figura 16, se observa que el menor porcentaje de inhibición del crecimiento radicular se obtuvo en la concentración de 15,63 ppm (10,0 %) para ambos plaguicidas y en la concentración de 4 000 ppm se obtuvo un 98,36 % de inhibición del crecimiento radicular-ICR por efecto de Metamidafos y de un 94,23 % por efecto de Clorotanilil (Fig. 16A y 16B). Con los resultados obtenidos, se hizo la prueba de normalidad de cada muestra, los resultados muestran que son datos no paramétricos, por tanto, se aplica la prueba de kruskal wallis que demuestra que entre las medias a nivel grupal entre todos los tratamientos existe diferencia significativa con $p=$ 1.671E-36, estableciendo que las diferentes concentraciones de Metamidafos y Clorotanilil producen efectos distintos en los organismos de prueba. El valor de $\text{Sig} < 0.05$, determina que se acepta la H_a (las diferentes concentraciones ocasionan un efecto toxico diferente en nivel sobre la elongación radicular en *Vicia faba*).

Los resultados del efecto de Metamidafos y Clorotanilil (Fig. 16C y 16D) en la elongación radicular evidencian que a medida que se incrementa la concentración del plaguicida se evidencia una mayor inhibición del crecimiento radicular (ICR). Según Serrano et al (2013), reportan que los contaminantes ambientales ejercen efectos adversos sobre las plantas indirectamente, generando residuos tóxicos en el suelo disponible para ser absorbidos.

De los parámetros evaluados en *V. faba*, se observa que los valores obtenidos muestran una relación directa entre las concentraciones analizadas con la inhibición de la germinación y del

crecimiento radicular. Se observó que a altas concentraciones se produce la inhibición de la germinación, así como de la elongación del crecimiento radicular. Esto demuestra actividad citotóxica de estos plaguicidas en *V. faba* estas pruebas pueden ser consideradas como ensayos de carácter preliminar, orientativo y constituye el punto de partida para la realización de análisis más específicos y sensibles (como test cometa, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas, cinética de proliferación celular, etc.) para poder evaluar un posible riesgo genotóxico, ya que estos ensayos son *in vitro* y no permiten una exacta correlación con lo que ocurre *in vivo* debido a las modificaciones que ocurren en el organismo.

Se calcula que actualmente se usan más de 3500 plaguicidas orgánicos, todos ellos pueden ser agentes contaminantes al ser arrastrados por el agua desde los campos de cultivo hasta los ecosistemas acuáticos donde se introducen en las cadenas alimenticias provocando la muerte de varias formas de vida necesarias en el balance de algunos ecosistemas (Malagón, 2007).

Cada plaguicida después de haber sido aplicado o expuesto al ambiente actúa con una dinámica y un destino propio, de acuerdo a las propiedades mismas del plaguicida y a los diferentes compartimentos de los ecosistemas con los que tendrá que interactuar. El movimiento y la dispersión en los ecosistemas de un plaguicida son las causas de la contaminación ambiental. Su dispersión y destino final dependerá de las características del ecosistema y del plaguicida, tipo de formulación, método de aplicación, condiciones ambientales y agrícolas (Omez et al, 1985).

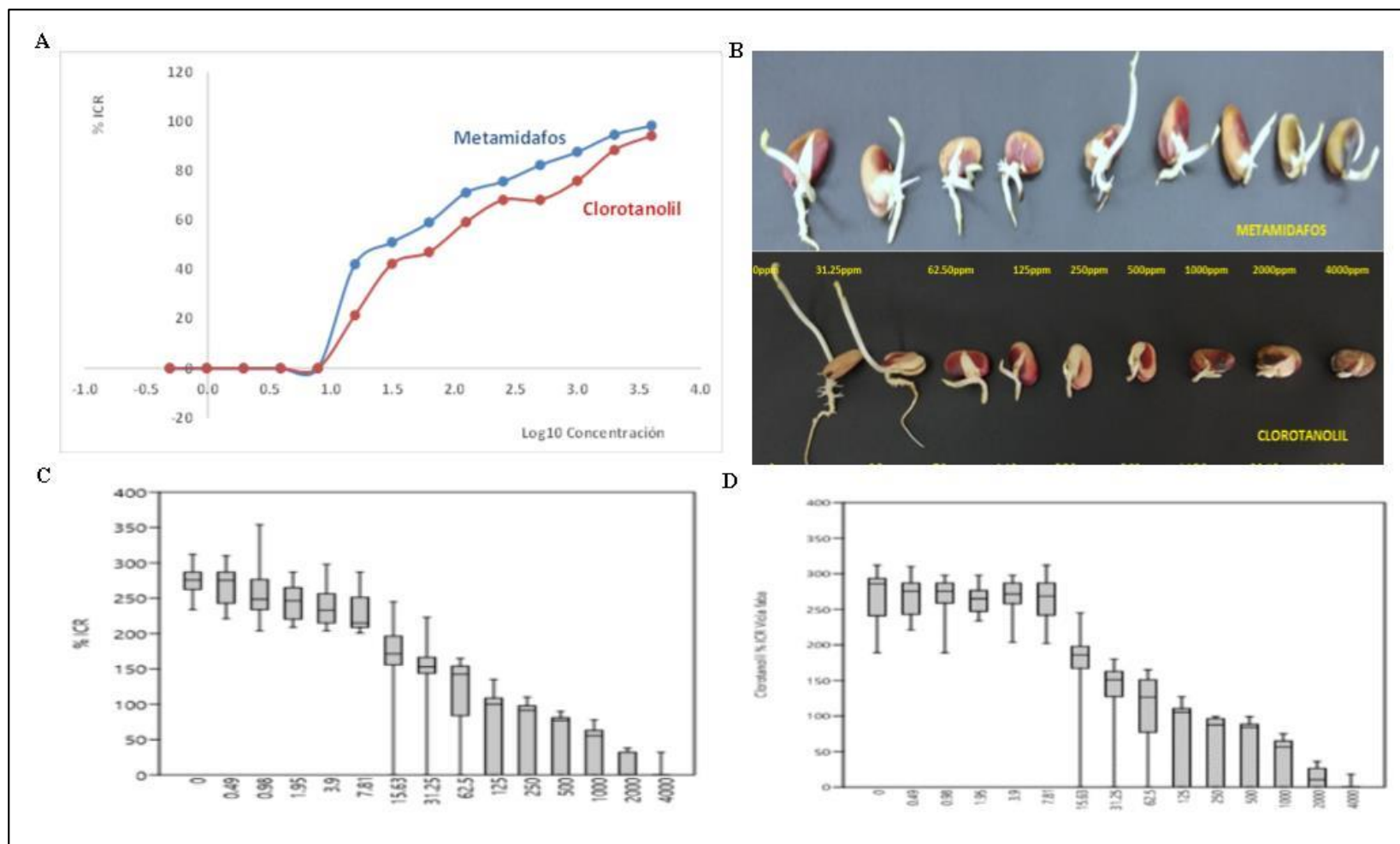


Figura 16. Efecto Sub letal de Metamidafos y Clorotanilil en *Vicia faba*.

A: Inhibición de Crecimiento Radicular (%ICR). B: Efecto de ICR por efecto de ambos tratamientos. C: Variación de Crecimiento Radicular por efecto de Metamidafos. D: Variación de Crecimiento Radicular

4.2.2.3. Efecto Letal de Plaguicidas Evaluados por Mortalidad en *Eisenia foetida*.

La contaminación del suelo por plaguicidas tiene un efecto adverso sobre las comunidades de invertebrados del suelo, como las lombrices de tierra, nematodos, otros poliquetos y micro artrópodos. En particular la lombriz de tierra ha sido utilizada en estudios en donde se evalúa la sobrevivencia, crecimiento y reproducción. Estos organismos son cosmopolitas en ambientes en donde se provee suficiente humedad y adecuada temperatura, son vulnerables a la mayoría de los factores que afectan este micro ecosistema, especialmente aquellos asociados con la aplicación de químicos agrícolas y residuos dispuestos inadecuadamente (Iannacone, y otros, 2007)

La exposición de estos organismos a suelos y sedimentos contaminados produce el contacto directo con su epidermis, lo que ocasiona un daño dérmico o la absorción de tóxicos por esta vía, al grado de provocar la muerte. La mortalidad en estos organismos es determinada por la falta de movimiento en respuesta a estímulos táctiles definidos en su porción final.

Los resultados obtenidos de los 450 individuos de *Eisenia foetida* distribuidas en un grupo control y 14 concentraciones progresivas del plaguicida Metamidafos y de Clorotanolil (rango = 0.49 a 4 000 ppm; N°/ (concentración) = 30) se muestran en el Anexo 9 y Anexo 10. Los ensayos fueron considerados válidos cuando la mortalidad de *E. foetida* no sobrepasó al 10 % en el tratamiento control. El indicador de la prueba aguda fue la mortalidad de los especímenes que, al ser pinchados con un alfiler entomológico, durante 10 segundos de observación no realizaron ningún movimiento coordinado y a las lombrices ausentes se consideraron que habían muerto debido a que éstas tienden a desintegrarse rápidamente después de su muerte.

La figura 17 muestra el efecto de los plaguicidas Metamidafos y Clorotanolil en la mortalidad de *E. foetida*, se evidencia que, la mortalidad se inicia a partir de la concentración de 15,63 ppm con un 3,33% de mortalidad por efecto de Metamidafos, y de un 3, 33% de mortalidad

en la concentración de 31,25 ppm con Clorotanolil, alcanzando valores de 90,0% de mortalidad a la máxima concentración evaluada de 4 000 ppm en ambos plaguicidas como se aprecia en la Fig. 17A y 17B. Se aplicó la prueba de normalidad de cada muestra, los resultados muestran que son datos no paramétricos, por tanto, se aplica la prueba de kruskal wallis. La prueba de kruskal wallis demuestra que entre las medias a nivel grupal entre todos los tratamientos existe diferencia significativa con $p=$: 1.671E-36. estableciendo que las diferentes concentraciones de Metamidafos y Clorotanolil producen efectos distintos en los organismos de prueba. El valor de Sig < 0.05, determina que se acepta la H_a (las diferentes concentraciones ocasionan un efecto diferente en nivel sobre la mortalidad de *Eisenia foetida*

Las figuras 17C y 17D muestran la Relación Dosis-Respuesta de Metamidafos y Clorotanolil respectivamente. El uso de *Eisenia foetida* como biomarcadores de eco toxicidad, cada vez es más relevante su aplicación permite la evaluación de los efectos de los contaminantes en los organismos del suelo, predice los efectos de los plaguicidas en el campo, basado en experimentos mediante pruebas de bioensayos de laboratorio (Alves et al., 2013).

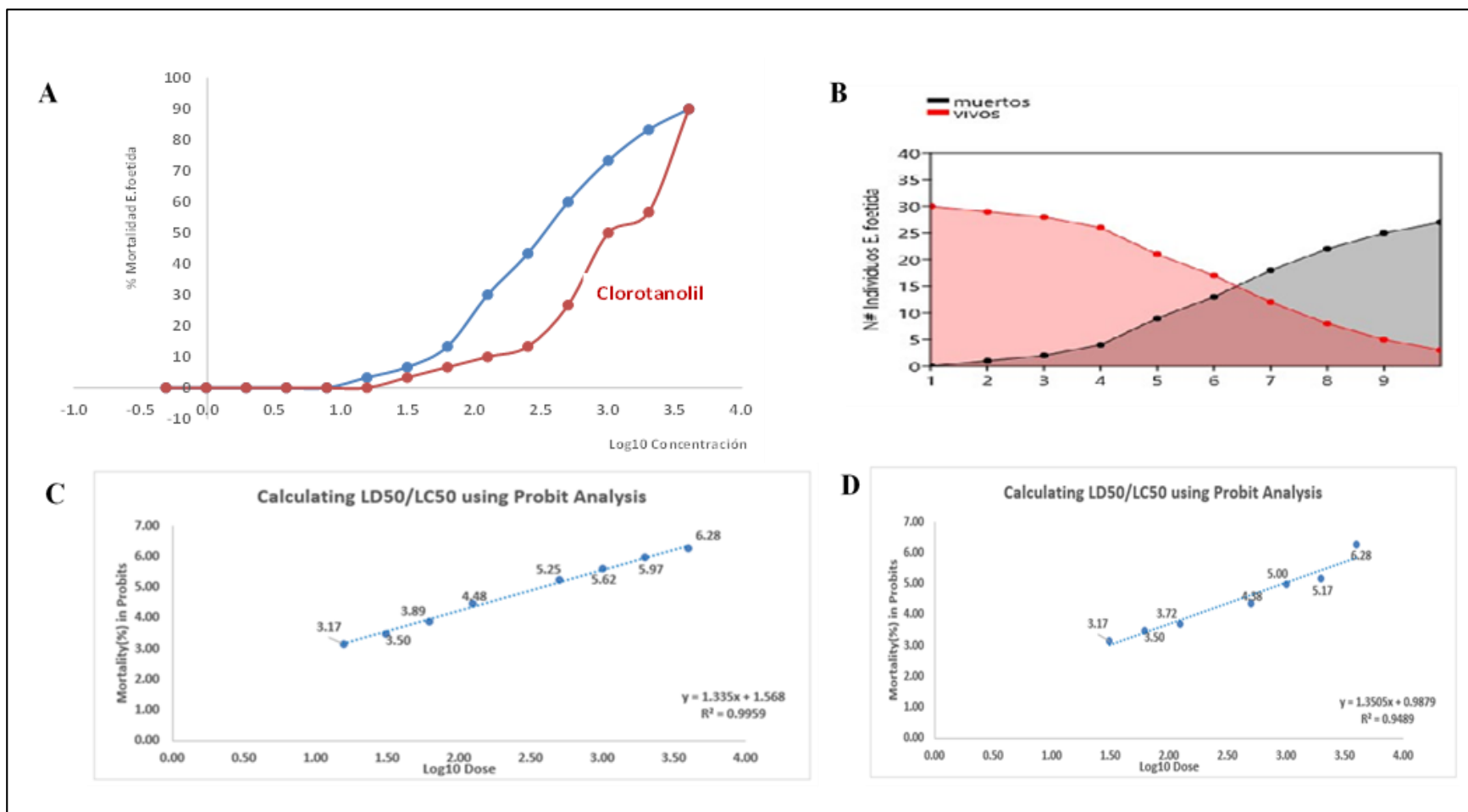


Figura 17. Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanilil en *Eisenia foetida*.

A: Porcentaje de Mortalidad. B: Distribución de *Eisenias* Vivas y Muertas por efecto de Metamidafos.

C: Dosis-Respuesta Metamidafos. D: Dosis-Respuesta Clorotanilil.

4.2.2.4. Efecto Sub Letal de Plaguicidas Evaluado por Diferencia de Peso en *Eisenia foetida*

La figura 38, muestra el efecto subletal del plaguicida Metamidafos y Clorotanolil en la variación del peso húmedo de *Eisenia foetida*. (Fig 39) Se observó una disminución del peso húmedo en las diferentes concentraciones en comparación con el control. (Figura 40 y 41) El mayor porcentaje de variación promedio se obtuvo en la concentración de 4 000 ppm (98,50%) por efecto de Metamidafos y Clorotanolil, siendo el menor porcentaje de pérdida de peso en la concentración de ppm (2,81 %) en el tratamiento con Metamidafos y un 1,06% a la concentración de 0,49 ppm de Clorotanolil. Se determinó que hubo diferencias significativas entre concentraciones (p valor <0.0000), estableciendo que las diferentes concentraciones de Metamidafos y Clorotanolil producen efectos distintos en los organismos de prueba. El valor de $Sig < 0.05$, determina que se acepta la H_a (las diferentes concentraciones ocasionan un efecto diferente en la diferencia de peso *Eisenia foetida* como parámetro de evaluación de toxicidad subletal).

Estudios realizados con otro tipo de biomarcadores reportados por Osuna et al, (1997) sobre la letalidad de los plaguicidas organofosforados: Metil-Paratión, Metil Azinfós, Clorpirifos, Diazinón y Metamidafos, en camarones del género *Penaeus sp.* realizando una exposición a diferentes concentraciones de los compuestos, con una CL50, en un tratamiento agudo de 48 horas. Señalan que Clorpirifos resultó ser el más tóxico con una CL50-48h de 0,0027 mg/l mientras que Metamidafos presentó la menor toxicidad con una CL50-48 h. de 5,132 mg /l. En otros trabajos Methamidafos presentan CL50- 96 hr. 0,015 mg/l en *Salmo gairdneriy* 51 mg/l en *Salmo trutta* respectivamente; según dichas publicaciones estos valores son el mayor y el menor encontrados, del grupo de plaguicidas organofosforados estudiados.

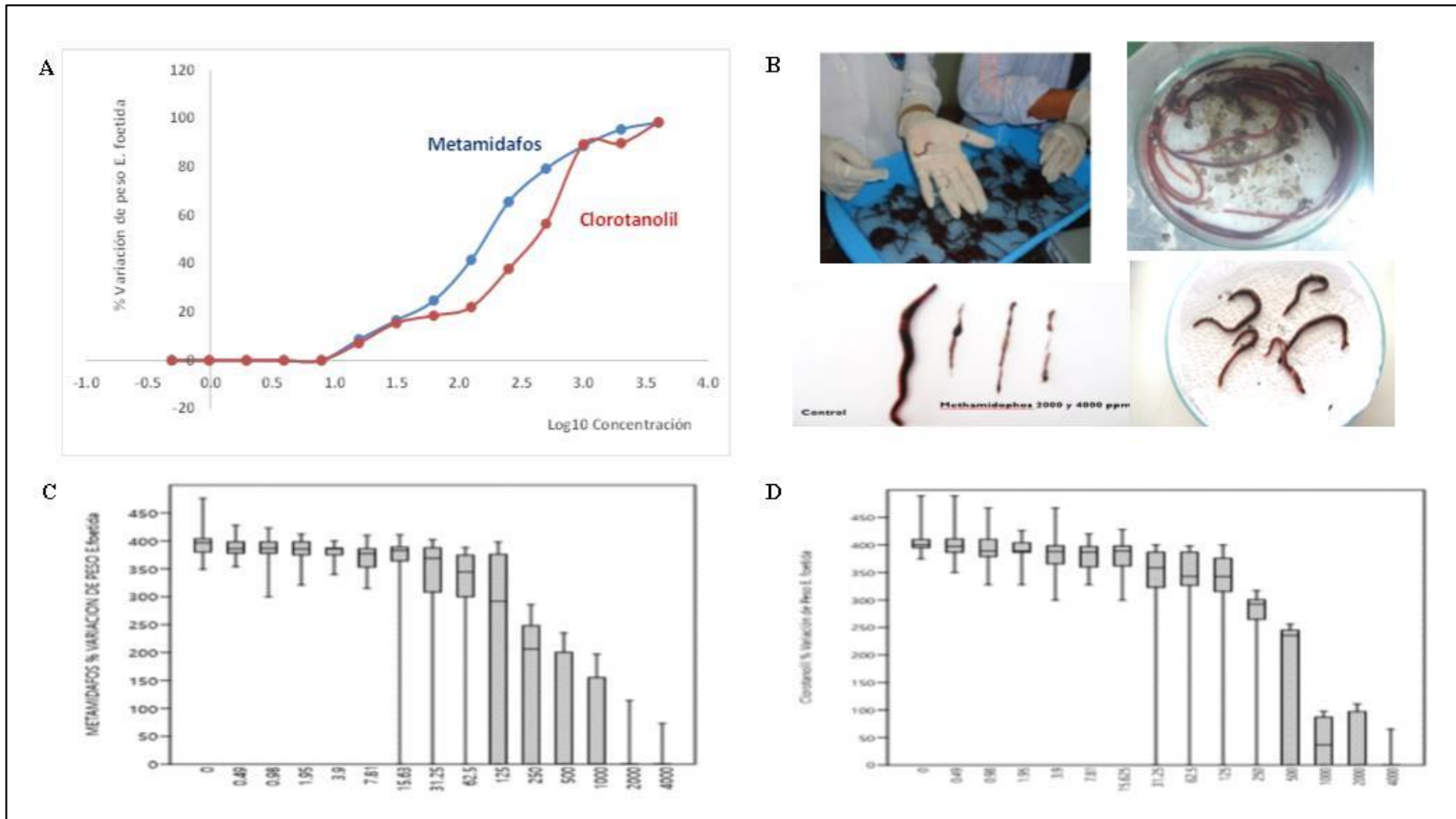


Figura 18. Efecto Sub letal de Metamidafos y Clorotanilil en *Eisenia. foetida*.

A: Porcentaje de Mortalidad. B: Efecto en Variación de Peso. C: Variación de Peso Húmedo por efecto de Metamidafos

. D: Variación de Peso Húmedo por efecto de Clorotanilil.

4.2.3. Determinación De Parámetros Toxicológicos

4.2.3.1. Determinación de la CL50.

Cualquier investigación que tenga como objetivo evaluar las propiedades de un compuesto tóxico, en base a la respuesta que provoca en un ser vivo, tiene dos componentes: el estímulo y la respuesta. La CL50 para ambos plaguicidas en *Vicia faba* y *Eisenia foetida*, se calculó utilizando el método de regresión Probit, también conocido como método de unidades probabilísticas, que es usado para evaluar la relación de dosis-respuesta de un contaminante o agente tóxico sobre un organismo, medida en términos de la concentración letal media (CL50) y su precisión o intervalo de confianza. Se asigna el valor Probit de tablas respecto del porcentaje de mortalidad obtenido para cada concentración o tratamiento, incluyendo los valores de cada una de las réplicas en el análisis de regresión.

La LC/EC 50 del plaguicida Metamidofos en *Vicia faba* tiene un valor de 751,346 ppm y la LC/EC 50 del plaguicida Clorotanolil tiene un valor de 876,317 ppm. (Tabla 8), por lo que se puede establecer que *Vicia faba* presenta una mayor tolerancia al plaguicida Clorotanolil. Se puede afirmar entonces que *Vicia faba* es un biomarcador con mayor sensibilidad para la evaluación tóxica del plaguicida Metamidafos.

Al comparar la CL50 de los dos plaguicidas en *E. foetida* (Tabla 9) se debe considerar que la actividad citotóxica es inversamente proporcional a la CL50, este valor se relaciona de forma inversa con el potencial de toxicidad; es decir, una sustancia es más tóxica si requiere de una menor concentración para producir la letalidad o algún otro daño subletal, por lo que se puede establecer que *E. foetida* presenta una mayor tolerancia al plaguicida Clorotanolil con una CL50 de 968,043

ppm, mientras que la CL50 para el plaguicida Metamidafos es 388,045ppm. Se puede afirmar entonces que, en base al valor de la CL50, *E. foetida* es un biomarcador con mayor sensibilidad para la evaluación toxica del plaguicida Metamidafos.

Tabla 8

Concentración Letal Media (LC/EC50) y Límites de Confianza de Metamidafos y Clorotanolil en V. faba.

LIMITES DE CONFIANZA AL 95%			
PLAGUICIDA	LC/EC50	INFERIOR	SUPERIOR
METAMIDAFOS	751,346	348.646	1898.266
CLOTANOLIL	876,317	409.001	2543.889

Tabla 9

Concentración Letal Media (LC/EC50) y Límites de Confianza de Metamidafos y Clorotanolil en E. foetida

LIMITES DE CONFIANZA AL 95%			
PLAGUICIDA	LC/EC50	INFERIOR	SUPERIOR
METAMIDAFOS	388.045	215.743	627.186
CLOTANOLIL	968,043	544.252	1647.275

4.2.3.2. Determinación de NOEC/NOAEL y LOEC/LOAEL en *Vicia faba*

A partir de los datos de la evaluación del efecto letal de Metamidafos y Clorotanolil en la germinación *Vicia faba*, se determinó la concentración en la que no se observa efecto letal alguno (NOEC) y la concentración más baja donde se observa efecto en la que se observan efecto (LOEC) en la prueba letal de germinación de *Vicia faba* (Tabla 10) por efecto de Metamidafos y Clorotanolil, Los resultados evidencian que Metamidafos tiene el valor NOEC a la concentración de 15.63 ppm y el valor LOEC a 31.25 ppm, lo que indica que a partir de esta concentración se presentan niveles de toxicidad aguda estadísticamente significativos por lo que se afirma que existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control Negativo.

Estos resultados confirman el hecho de que, durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos que pueden ser interferidos por la presencia de una sustancia tóxica, alterando el desarrollo normal y la supervivencia de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos. Por otra parte, Iannacone et al (2008), afirman que las especies tienen diferentes sensibilidades que dependen de muchos factores como tiempos de exposición, edad de las semillas y otros.

Los resultados de las pruebas post-hoc de Tukey y Dunnet para comparar las medias de las variables independientes de inhibición de crecimiento radicular son presentados en la Tabla 11, siendo para Metamidafos, el valor que la concentración máxima en la que no se observa efectos adversos NOAEL, es 7.81 ppm. y el valor de LOAEL es de 15.63 ppm, lo que indica que a partir de esta concentración se presentan niveles de toxicidad sub letal estadísticamente significativos.

Con los resultados del efecto subletal Clorotanolil, se estimó un NOEC de 15.63 ppm y un LOEC de 31.25 ppm.

La fitotoxicidad generalmente se refiere a la manifestación o aparición de una o más respuestas adversas o desfavorables en las plantas, resultado de la exposición (por una o varias vías) a una sustancia tóxica o mezcla de ellas. Comparado con los árboles y arbustos, las plantas herbáceas, especialmente los pastos, tienen características de rápido crecimiento, cualidad que las hace excelentes organismos de prueba para la evaluación de los parámetros biométricos, asimismo pueden ser utilizados como biomarcadores.

Tabla 10

Determinación de NOEC y LOEC por Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanólil en *Vicia faba*

CONCENTRACION	Sig.	METAMIDAFOS		CONCENTRACION	Sig.	CLOROTANOLIL	
		comparación del tratamiento contra el control				comparación del tratamiento contra el control	
0.49 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0		0,49 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
0.98 ppm	,990	No existe evidencia para rechazar la H0		0.98 ppm	,986	No existe evidencia para rechazar la H0	
1.95 ppm	,581	No existe evidencia para rechazar la H0		1.95 ppm	,524	No existe evidencia para rechazar la H0	
3.90ppm	,151	No existe evidencia para rechazar la H0		3.90ppm	,118	No existe evidencia para rechazar la H0	
7.81 ppm	,151	No existe evidencia para rechazar la H0		7.81 ppm	,118	No existe evidencia para rechazar la H0	
15.63 ppm	,151	No existe evidencia para rechazar la H0		15.63 ppm	,118	No existe evidencia para rechazar la H0	
31.25 ppm	,008	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		31.25 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
62.5 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		62.5 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
125 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		125 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
250 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		250 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
500 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		500 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
1000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		1000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
2000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		2000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
4000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		4000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	

Ha: Existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

H0: No existe diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

NOEC=Concentración de efectos no observables e inmediatamente debajo del LOEC.

LOEC = Concentración más baja de efecto observables.

Tabla 11

Determinación de NOAEL y LOAEL por Efecto Sub letal de Metamidafos y Clorotanolil en *Vicia faba*

CONCENTRACION	Sig.	METAMIDAFOS		CONCENTRACION	Sig.	CLOROTANOLIL	
		comparación del tratamiento contra el control				comparación del tratamiento contra el control	
0.49 ppm	,998	No existe evidencia para rechazar la H0		0,49 ppm	,988	No existe evidencia para rechazar la H0	
0.98 ppm	,764	No existe evidencia para rechazar la H0		0.98 ppm	,788	No existe evidencia para rechazar la H0	
1.95 ppm	,003	No existe evidencia para rechazar la H0		1.95 ppm	,290	No existe evidencia para rechazar la H0	
3.90ppm	,000	No existe evidencia para rechazar la H0		3.90ppm	,285	No existe evidencia para rechazar la H0	
7.81 ppm	,000	No existe evidencia para rechazar la H0		7.81 ppm	,197	No existe evidencia para rechazar la H0	
15.63 ppm	,000	No existe evidencia para rechazar la H0		15.63 ppm	,002	No existe evidencia para rechazar la H0	
31.25 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		31.25 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
62.5 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		62.5 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
125 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		125 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
250 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		250 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
500 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		500 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
1000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		1000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
2000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		2000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
4000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		4000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	

H_a: Existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

H₀: No existe diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

NOAEL=Concentración de efectos no observables e inmediatamente debajo del LOEC

LOAEL = Concentración más baja de efecto observables.

4.2.3.3. Determinación de NOEC/NOAEL y LOEC/LOAEL en *Eisenia foetida*

En base a los resultados de la prueba de efecto letal evaluada se determinó que el NOEC para el Metamidafos es de 62.50 ppm y el LOEC es de 125 ppm y para Clorotanolil se estimó un NOEC de 125 ppm y un LOEC de 250 ppm (Tabla 12), lo que indica que a partir de esta concentración se presentan niveles de toxicidad aguda estadísticamente significativos, lo que indica que a partir de esta concentración se presentan niveles de toxicidad aguda estadísticamente significativos por lo que se afirma que existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control Negativo (0 ppm).

El efecto de Metamidafos y Clorotanolil en la variación de peso de *Eisenia foetida*, se presenta en la Tabla 13, siendo el valor que la concentración máxima en la que no se observa efectos adversos (NOEC) es 7.81 ppm. y el valor de LOEC es de 15.63 ppm, lo que indica que a partir de esta concentración se presentan niveles de toxicidad sub letal estadísticamente significativos. NOEC corresponde a la concentración de 125 ppm y la NOEC corresponde a la concentración de 250 ppm, por lo que se afirma que existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-). Con los resultados del efecto subletal Clorotanolil, se estimó un NOEC de 15.63 ppm y un LOEC de 31.25 ppm. por lo tanto, se acepta la H_0 , esta es la máxima concentración que no es capaz de generar efectos adversos sobre la población de organismos expuestos expresado en la disminución de peso húmedo de *Eisenia foetida*.

Tabla 12

Determinación de NOEC y LOEL por Efecto Letal de Metamidafos y Clorotanolil en *Eisenia foetida*

CONCENTRACION	Sig.	METAMIDAFOS		CONCENTRACION	Sig.	CLOROTANOLIL	
		comparación del tratamiento contra el control				comparación del tratamiento contra el control	
0.49 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0		0,49 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
0.98 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0		0.98 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
1.95 ppm	0.167	No existe evidencia para rechazar la H0		1.95 ppm	11,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
3.90ppm	0.167	No existe evidencia para rechazar la H0		3.90ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
7.81 ppm	0.167	No existe evidencia para rechazar la H0		7.81 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
15.63 ppm	0.643	No existe evidencia para rechazar la H0		15.63 ppm	1,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
31.25 ppm	0.074	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		31.25 ppm	0.333	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
62.5 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		62.5 ppm	0.04	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
125 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		125 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
250 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		250 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
500 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		500 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
1000 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		1000 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
2000 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		2000 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
4000 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		4000 ppm	.000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	

H_a: Existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

H₀: No existe diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

NOEC=Concentración de efectos no observables e inmediatamente debajo del LOEC.

LOEC = Concentración más baja de efecto observables.

Tabla 13

Determinación de NOAEL y LOAEL por Efecto Sub Letal de Metamidafos y Clorotanilil en *Eisenia foetida*

CONCENTRACION	Sig.	METAMIDAFOS		CONCENTRACION	Sig.	CLOROTANILIL	
		comparación del tratamiento contra el control				comparación del tratamiento contra el control	
0.49 ppm	,511	No existe evidencia para rechazar la H0		0,49 ppm	,219	No existe evidencia para rechazar la H0	
0.98 ppm	,091	No existe evidencia para rechazar la H0		0.98 ppm	,117	No existe evidencia para rechazar la H0	
1.95 ppm	,009	No existe evidencia para rechazar la H0		1.95 ppm	,007	No existe evidencia para rechazar la H0	
3.90ppm	,076	No existe evidencia para rechazar la H0		3.90ppm	,002	No existe evidencia para rechazar la H0	
7.81 ppm	,006	No existe evidencia para rechazar la H0		7.81 ppm	,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
15.63 ppm	,000	No existe evidencia para rechazar la H0		15.63 ppm	,000	No existe evidencia para rechazar la H0	
31.25 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		31.25 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
62.5 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		62.5 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
125 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		125 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
250 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		250 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
500 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		500 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
1000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		1000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
2000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		2000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	
4000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%		4000 ppm	,000	Se rechaza la H0 en favor a la Ha con nivel de confianza del 95%	

H_a: Existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

H₀: No existe diferencia significativa entre las medias de las concentraciones comparadas respecto al Control (-).

NOAEL=Concentración de efectos no observables e inmediatamente debajo del LOEC

LOAEL = Concentración más baja de efecto observables.

4.2.4. Caracterización de Riesgo Ambiental

Para la determinación del riesgo toxicológico ambiental, que los plaguicidas detectados, en las muestras de suelo representan para el ecosistema y la salud humana en el distrito de Chinchero, se consideran simultáneamente los resultados de la evaluación de la exposición y de los efectos, para estimar cuál es la probabilidad de que se produzcan efectos adversos y cuál será la magnitud de los mismos.

En base a la determinación de los posibles efectos adversos del Metamidofos y Clorotanolil, sobre los organismos expuestos *Eisenia foetida* y *Vicia faba* se elaboró la tabla 14 que resume los parámetros toxicológicos evaluados, con los valores CL50, NOEC, NOEC, NOAEL y LOAEL, los “endpoints” para cada organismo que fueron utilizados en la determinación del riesgo.

Para la determinación del Cociente de riesgo, se requiere el PNEC (concentración prevista sin efecto) que viene a ser la concentración prevista sin efecto o la concentración de una sustancia en cualquier entorno, por debajo del cual, es muy probable que no se produzcan efectos adversos durante una exposición a largo o corto plazo, el PNEC normalmente corresponde al valor NOAEL de la especie más sensible para cada plaguicida evaluado, estos valores, representan datos sensibles al daño, que puede generarse al ecosistema y a la salud humana.

Para estimar el cociente de riesgo (CR, QR, *Risk Quotient*), es necesario tener los valores PEC (concentración ambiental real o prevista), en este caso los valores de PEC se consideró, como la concentración residual más alta detectada en suelos de cultivo de papa para cada plaguicida y los valores de PNEC, se consideró los valores de NOAEL con el organismo más

sensible para cada plaguicida, siendo de 0.98 para Metamidafos y de 7.81 para Clorotanilil ambos valores obtenidos en *V.faba* (Tabla 14).

Tabla 14

Parámetros Toxicológicos Evaluados

PARÁMETRO	ENSAYOS TOXICOLÓGICOS			
	METAMIDAFOS		CLOROTANOLIL	
	<i>V.faba</i>	<i>E. foetida</i>	<i>V.faba</i>	<i>E. foetida</i>
CL50/DL50 ppm	751,346	388.045	876,317	968.043
LC Inferior (95%)	326,424	219.611	360,343	534.654
LC Superior (95%)	1,729,407	685.662	2,131,114	1,752,737
NOEC (Efecto letal)	31.25	15.63	15.63	125
LOEC (Efecto Letal)	62.5	31.25	31.25	250
NOAEL (Efecto Sub letal)	0.98	7.81	7.81	15.63
LOAEL (Efecto Sub Letal)	1.95	15.63	15.63	31.25

CL50/DL50: Concentración letal media

NOEC/NOAEL= concentración de efecto no observado

LOEC/LOAEL= concentración más baja donde se observa efecto

LC= límite de confianza.

La determinación del riesgo ambiental, se realizó por comparación de los valores PEC, con los valores PNEC, calculando la relación PEC/PNEC, también llamada “Cociente de Riesgo” Para facilitar la interpretación de resultados, se tomó los criterios propuestos por Sánchez, (2008), quien señala que en base al valor estimado del Cociente de Riesgo se puede caracterizar el tipo de riesgo: Riesgo Alto: $CR \geq 10$; Riesgo Moderado: $CR 1-10$; y Riesgo Bajo: $CR \leq 1$.

Tabla 15

Determinación de Riesgo Ambiental de Metamidafos y Clorotanilil

	PEC (ppm)	PNEC(ppm)	PEC/PNEC	RIESGO
Metamidafos	2.41	0.98	2.46	MODERADO
Clorotanilil	0.314	7.81	0.04	BAJO

PEC: Valor más alto de plaguicida residual detectado

PNEC: valor de LOAEL (*V. faba*)

$CR \geq 10$: Riesgo Alto; $CR 1-10$: Riesgo Moderado; $CR \leq 1$: Riesgo Bajo

Los resultados de la caracterización de riesgo ambiental (Tabla 15) evidencian que, Metamidafos con un valor de CR de 2,46 representa un riesgo ambiental moderado, mientras que para el plaguicida Clorotanolil se estimó un CR de 0.04 representando un riesgo ambiental bajo. De acuerdo con el registro de riesgo de plaguicidas de la Unión Europea, al comparar los valores determinados de $PEC > PNEC$, es decir $PEC: 2.41 \text{ ppm} > PNEC: 0.98 \text{ ppm}$, se confirma que para el caso de exposición al Metamidofos constituye riesgo ambiental.

Quispe (2017), reporta un CR de 3.8, al evaluar Metamidafos con un valor $PEC: 1.9 \text{ ppm}$ y $PNEC$ considerando el valor de $NOAEL$ más sensible (0.05 ppm) obtenido en los bioensayos en *Eisenia foetida*, con muestras de suelo colectadas dos meses después de la última aplicación de plaguicidas en los cultivos de papa en un agroecosistema de Chinchero.

Se debe considerar que los ensayos de laboratorio mantienen condiciones uniformes, siendo el único factor de influencia y/o estrés, la concentración del plaguicida, sin embargo, la heterogeneidad de la matriz del suelo y la complejidad de las interacciones ecológicas son los dos principales obstáculos para evaluar la ecotoxicología del suelo (Vale et al 2003).

El Metamidafos se clasifica como no persistente en el ambiente, su vida media tiene un valor de 6 a 12 días en el suelo y su potencial de bioacumulación es bajo debido a su baja persistencia, Sin embargo, es clasificado en el grupo 1a, “extremadamente peligroso”, por lo que puede causar diversos síntomas de intoxicación como, somnolencia, diarrea, salivación excesiva, debilidad muscular, anorexia, pérdida de peso, disnea, cianosis, parálisis respiratoria y muerte.

En las diferentes investigaciones reportadas, los ensayos ecotoxicológicos desarrollados, difieren en el tipo de compuesto, los compuestos formulados comerciales y los compuestos con un

alto grado analítico; sin embargo, los compuestos formulados simulan condiciones más reales en campo. Peña (2018), reporta que la ratio PEC/PNEC de Metamidafos en *Eisenia andrei*, evidenció un mayor efecto toxico con valores de PEC/PNEC >1 respecto a Alfa-cipermetrina y la exposición mixta demostró un efecto de mayor riesgo que la exposición individual por lo que afirma que las pruebas de toxicidad mixta de los plaguicidas, demuestran una evaluación más real a las condiciones de campo.

Iannacone et al, (2007) reportan estudios sobre el efecto ecotóxicológico del Metamidafos, en dos formulaciones de diferente categoría toxicológica Monofos, categoría Ia (extremadamente peligroso) y Tamaron, categoría Ib (altamente peligroso)] sobre cuatro organismos acuáticos no destinatarios: la lombriz roja *Chironomus calligraphus* (Diptera:Chironomidae), el erizo negro *Tetrapygnus niger* Molina, 1782 (Echinodermata: Arbaciidae), el neón tetra *Paracheirodon innesi* (Rabout, 1940) (Osteichthyes: Characidae) y la trucha *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Osteichthyes: Salmonidae). Demostraron que ambas formulaciones del Metamidafos provocaron un alto riesgo sobre el ambiente acuático. La secuencia de sensibilidad al Metamidafos en ambas formulaciones fue: *C. calligraphus* > *O. mykiss* > *P. innesi* > *T. niger*. Los cocientes de riesgo indicaron en todos los casos un alto riesgo del Metamidafos en el ambiente acuático. Estos reportes concuerdan con los resultados obtenidos en esta investigación donde se evidencia que Metamidafos tiene un efecto toxicológico.

Teniendo en consideración que el objetivo de la evaluación del riesgo toxicológico es estimar la probabilidad y el grado de ocurrencia de efectos adversos en humanos y sistemas ecológicos a causa de la exposición a sustancias toxicas y habiendo determinado que el plaguicidas Metamidofos, representa un riesgo toxicológico ambiental es importante aplicar este tipo de evaluaciones a otros plaguicidas para así poder estimar la probabilidad y magnitud de un riesgo,

utilizando la evaluación de riesgo ambiental, como una herramienta para respaldar científicamente la toma de decisiones en un amplio rango de disciplinas incluyendo el control y la regulación de plaguicidas.

Las pruebas de toxicidad constituyen un elemento esencial para la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA). Los ensayos de ecotoxicidad son también utilizados con un enfoque retrospectivo de ERA, permiten evaluar la contaminación histórica y sus posibles consecuencias ecológicas continuas. En términos generales, las pruebas de ecotoxicidad constituyen el principal instrumento para los requisitos legales y la toma de decisiones de gestión ambiental, su aplicación permite el desarrollo de múltiples estándares y/o protocolos que dependen principalmente de los medios ambientales u organismos de prueba. (Sánchez-Hernández, 2011)

CONCLUSIONES

1. De las 09 muestras de papa analizadas, 7 exceden los Límites Máximos Residuales (LMR) de Metamidofos (0,05ppm) siendo el valor más alto de 2.41ppm. Malation fue detectado en el total de muestras de las cuales 6 exceden los LMR de 0.5 ppm. Diazinon, Paration y Clorpirifos fueron detectados en algunas muestras con niveles por debajo de los LMR. La cuantificación de los plaguicidas organoclorados evidencian que Clorotanolil excede en 08 muestras los LMR(0.01ppm), todas las muestras presentaron valores superiores a los permitidos en papa de Heptacloro LMR (0.01ppm) y Endosulfan LMR(0.05ppm). Diclorvos, fue detectado en 4 muestras, pero con valores por debajo del LMR (0.01ppm). El DDT no fue detectado en ninguna muestra. De las 09 muestras de suelo analizadas, el total de muestras presentan Metamidafos y Malation con valores por encima del ECA utilizado de 0.003ppm y de 1.2ppm respectivamente. Paration fue detectado en 05 muestras con valores superiores al ECA (0.37ppm). Clorotanolil, fue detectado con valores inferiores al ECA(0.47ppm). Heptacloro, Diclorvos y DDT fueron determinados con valores <0.003 ppm en algunas muestras.

2. La caracterización de riesgo alimentario utilizando el criterio de evaluación por bandas porcentuales, se determinó que la media de los residuos de Metamidafos detectados en papa fue de 1.38 ppm y al calcular el riesgo alimentario se obtuvo un valor de 6.6125 correspondiendo a la categoría de Riesgo Alto y no aptos para el consumo humano. Se estimó para Malation un valor de 0.58 que representa un Riesgo Medio y Paration (0.2) presentó un Riesgo Bajo. El Clorotanolil (0.3), fue el residuo organoclorado con Riesgo Medio. Los plaguicidas Diclorvos, Heptacloro y Endosulfan presentaron Riesgo Bajo.

3. El efecto toxico evaluado en *Vicia faba* de los plaguicidas Metamidofos y Clorotanolil a diferentes concentraciones influyó significativamente la capacidad germinativa y la inhibición de crecimiento radicular ($p < 0,000$). Los parámetros toxicológicos para el Metamidafos fueron: CL50: 751,346ppm, NOEC: 31.25ppm, LOEC:62.5ppm NOAEL: 0.98ppm y LOAEL: 1.95ppm. Los parámetros toxicológicos para Clorotanolil fueron: CL50:876,317 ppm, NOEC:15.63 ppm, LOEC: 31.25ppm, NOAEL: 7,81 ppm y LOAEL:15,63 ppm. El efecto tóxico de Metamidofos y Clorotanolil en *Eisenia foetida*, mostró un incremento significativo de mortalidad y diferencia de peso húmedo con las dosis crecientes de ambos plaguicidas ($p < 0,000$). De los parámetros toxicológicos determinados, con ambos plaguicidas en *V. faba* y *E. foetida*, se establece que *Vicia faba* es un biomarcador más sensible a ambos plaguicidas. En la caracterización de riesgo ambiental, se determinó que, Metamidafos presentó un Cociente de Riesgo (CR) de 2,46 representando riesgo ambiental moderado, mientras que para Clorotanolil se estimó un CR de 0.04 representando un riesgo ambiental bajo. La comparación de los valores determinados de PEC $> PNEC$ confirma que para el caso de exposición al Metamidofos constituye riesgo ambiental.

SUGERENCIAS

1. Realizar estudios de toxicidad crónica para verificar el efecto sobre la producción y crecimiento de los plaguicidas utilizando diversos biomarcadores.

2. Realizar estudios para evaluar el efecto tóxico de múltiples formulaciones comerciales que incluye compuestos diversos herbicidas, plaguicidas, y metales.

3. Se debe socializar y promover el Uso de Procedimientos de Buenas Prácticas Agrícolas para los agricultores a fin de garantizarla calidad e inocuidad alimentaria.

4. Se sugiere un estricto control en la comercialización, uso y frecuencia de aplicación de ciertos plaguicidas como es el caso de Metamidafos, por el MINAG (Ministerio de Agricultura), SENASA (Servicio Nacional de Saneamiento Ambiental), MINSAL (Ministerio de Salud), que garanticen el cumplimiento de la prohibición de estos productos por contener componentes altamente tóxicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Pesticides Biomarkers in terrestrial invertebrates. InTech. 213-240. (s.f.).
- Aldás Aldás, M. (2012). Uso de insecticidas en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) por socios de la corporación de asociaciones agropecuarias del cantón Quero “Coagro-Q”. Trabajo de grado. Universidad Técnica de Ambato, Ambato. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3939/1/Tesis-35agr.pdf>
- Alpha Raj, M. (2018). Calculation of LD50 or LC50 using Probit Analysis. MVSc, PhD Assistant Professor, Veterinary Pharmacology & Toxicology, SVVU. India. Obtenido de <https://probitanalysis.wordpress.com/>
- Alves, P., Cardoso, E., Martines, A., Sousa, J., & Pasini, A. (2013). Earthwormecotoxicological assessments of pesticides used to treat seeds under tropical conditions. *Chemosphere*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.046>
- Ammer, Ø., Harper, D., & Ryan, P. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. Obtenido de http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Anónimo. (1986). Clasificación de plaguicidas conforme a su peligrosidad. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. México.
- Aquino, A., & Castro, M. (2008). Análisis de residuo de plaguicida organofosforado (Methamidophos) en muestras de papa de mercados de Lima Metropolitana. Tesis Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM, Lima.
- ASTM E1676. (1997). Standard guide for conducting a laboratory soil toxicity test with lumbricid earthworm *Eisenia foetida*. Manual de técnicas de análisis de suelos.
- ATSDR. (2016). Toxicological Profile for Endosulfan. Agency of Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological profile for aldrin and dieldrin. Atlanta, Georgia: Department of Health and Human Services, Public Health Service. Obtenido de <https://www.atsdr.cdc.gov/es/index.html>
- Baradon, E., & Frixione, E. (1982). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica, Limusa. México.
- Bello, G. (2001). Fundamentos de Ciencia Tóxicológica Ediciones Díaz de Santos, S. A. (3ª Edición ed.). Madrid.
- Benítez Díaz, P., Miranda Contreras, L., Molina Morales, Y., Sánchez Gil, B., & Balza Quintero, A. (2015). Residuos de plaguicidas en la cáscara e interior de la papa (*Solanum tuberosum* L.) proveniente de una región agrícola del estado Mérida. Mérida.

- Bianchi, J. (2015). Analisis de efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos del insecticida malation, utilizando el test de Allium cepa y celulas de mamíferos. Instituto de Biociencias. Universidad Estatal Paulista Julio de Mesquita Filho. Obtenido de http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87716/bianchi_j_me_rcla.pdf?sequence=1
- BIOAGRO. (2021). Retrieved April 16, 2021. scielo.org, 27-36. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131633612015000100004&lng=en&tlng=es
- Bortoli, G., Barbieri de Azevedo, M., & Basso da Silva, L. (2009).). Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. . Mutat.
- Bruno, A. (2016). Estimación de los efectos ambientales y socioeconómicos del uso de plaguicidas en sistemas de producción fruti-vitícola del departamento de Canelones. Tesis de pre grado. Uruguay. Obtenido de <http://www.rapaluruaguay.org/agrotoxicos/Uruguay/TesisAB.pdf>
- Capó, M. (2007). Principios de Ecotoxicología. Diagnostico tratamiento y Gestión del ambiente. Madrid: Tébar.
- Castilla Pinedo, Y., Alvis Estrada, L., & Alvis Guzmán, N. (2010). Exposición a organoclorados por ingesta de leche pasteurizada comercializada en Cartagena. Re. Salud Pública, 14-26.
- Castillo, G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). . Obtenido de <https://idl.bnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/26391/106/IDL-26391.pdf>
- CGIAR – RTB. (11 de Abril de 2016). Research Program on Roots, Tuber and Bananas. Potato. Obtenido de rtb.cgiar: <http://www.rtb.cgiar.org/potato/#sthash.CBJYzQ13.dpuf>
- CIP. (05 de Abril de 2020). Dato y cifras de la papa—International Potato Center Investigación Agrícola para el Desarrollo: Datos y cifras de la Patata . Obtenido de cipotato: <http://cipotato.org/potato/facts>
- Codex Alimentarius. (2017). MRLs Pesticides. Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias Comisión del Codex Alimentarius 40. o período de sesiones CICG, Ginebra, Suiza. Ginebra: Codex Website. Obtenido de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-.pdf>
- Coscollá, R., & Coscollá, C. (2006). Cómo disminuir o eliminar los residuos de plaguicidas en frutas, hortalizas y alimentos transformados. Uruguay: Ed. Phytoma. .
- Cuevas Días, M., Ferrera Cerrato, R., & Rodríguez Vázquez, R. (2008). Ensayo de Toxicidad aguda con la lombriz de tierra Eisenia andrei. En P. Ramírez Romero, & A. Mendoza Cantú, Ensayos toxicológicos para la evaluacion de sustancias químicas en agua y suelo.

- La experiencia en México. . México: Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).
- Cuevas Díaz, M., Rosaldo Santiago, J., & López Luna, J. (2012). Evaluación de la toxicidad de los suelos mediante bioensayos con semillas. En M. d. Cuevas Díaz, G. Espinosa Reyes, C. A. Ilizaliturri Hernández, & A. Mendoza Cantú, *Metodos ecotoxicologicos para la evaluacion de suelos contaminados con hidrocarburos*. México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).
- Díaz Báez, M., Bulus Rossini, G., & Pica Granados, Y. (2004). Método estadísticos para el análisis de resultados de toxicidad. En G. Castillo Morales, *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones* . México: IMTA (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua).
- EC. (1994). *on RiskAssessment for Existing Substances and The Directive 98/EEC of the European Parliament and of the Council concerning the Placing of Biocidal Products on the market*. Joint Research Center, EUR 20418 EN.
- EC European Commission. (2003). *Technical Guidance Document on Risk Assessment in Support of The Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances and The Commission Regulation* .
- ECT (Edinburgh Centre for Toxicology). (2015). *Environmental Risk Assessment. UNEP/IPCS Training Module No 3. Section B. 2015*. Obtenido de <http://www.chem.unep.ch/irptc/Publications/riskasse/B2text.pdf>.
- Egúsqüiza, B. (2008). *La Papa en el Perú: Presente y Futuro*. Obtenido de [agroancash.gob: https://agroancash.gob.pe/agro/wp-content/uploads/2016/07/la_papa.pdf](http://agroancash.gob.pe/agro/wp-content/uploads/2016/07/la_papa.pdf)
- EPA Environmental Protection Agency. (2002). *Seed Germination /Root Elongation Toxicity Test Ecotox database*. Obtenido de <http://www.epa.gov/ecotox/>.
- EPA; U.S.; OCSPP y OPP. (2015). *Ecological Risk Assessment for Pesticides: Technical Overview* |US EPA. Obtenido de <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/ecological-risk-assessment-pesticide-technical#framework>
- EPA-Environmental Protection Agency. (2010). *Pesticides Topical & Chemical Fact Sheets. USA*. Obtenido de http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemical_fs.htm
- ESDAT. (2016). *ESdat. Obtenido de Environmental Management Act. Contaminated sites regulation*. Obtenido de <http://www.esdat.net/Environmental%20Standards/Canada/BC/Sch10.htm>
- ESRI PRESS CATALOG. (2013). *Software ArGIS*. Obtenido de <https://www.esri.com/content/dam/esrisites/sitecorearchive/Files/Pdfs/library/catalogs/esripress-catalog-2013.pdf>
- FAO. (2003). *Presentación de los Acuerdos MSF y OTC de la OMC) en Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: Directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales*

- de control de los alimentos. Estudios FAO: Alimentación y Nutrición No. 65. Obtenido de <http://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y8705s/y8705s00.pdf>).
- FAO. (2008). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Assessing soil contamination. A reference manual. Pesticide Disposal Series N. 8. Urban Agriculture For Sustainable Poverty Alleviation and Food Security. Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/003/X2570E/X2570E00.HTM>
- FAO/ OMS. (2006). Pesticide residues in food. Maximum residue limits. Secretariat of the Codex Alimentarius Commission. Roma. Obtenido de http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_q-e.jsp
- FAO/OMS. (1995). Secretariat of the Codex Alimentarius Comission. Roma: http://www.codexalimentarius.net/mrls/pestdes/jsp/pest_q-e.jsp.
- FAO/OMS. (2011). Manual de Procedimientos de la Comisión de Codex Alimentarius. Definiciones. Guía para la aplicación de principios y procedimientos de análisis de riesgos en situaciones de emergencia relativas a la inocuidad de los Alimentos. .
- FAO/WHO. (1998). Guidelines for predicting the dietary intake of pesticide residues. Bulletin of the World Health Organisation.
- Fava, J., Adams, W., Larson, R., Dickson, G., Dickson, K., & Bishop, W. (1987). Research Priorities in Environmental Risk Assessment. - SETAC Workshop Report, Breckenridge. Colorado.
- Fernández, N., Pujol, E., & Maher, E. (2012). Los plaguicidas: Aquí y ahora. Ministerio de la Educación (1ra edición ed ed.). Buenos Aires.
- Finney, D. (1971). Probit analysis. 3 ed. Cambridge University Press. London.
- Font, G., Fernández, M., Ruiz, M., & Picó, Y. (2006). Residuos de plaguicidas en alimentos. pp349-372. en Tóxicología Alimentaria, Cameán A.M., Repetto M. Ed. Díaz de Santos.
- García, M. (2004). Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicological test methods for tropical regions.
- García, S., & Pérez, R. (2012). Aplicaciones de la Cromatografía Líquida con Detector de Diodos y Fluorescencia al Análisis de Contaminantes Medioambientales. Obtenido de https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/43/028/43028576.pdf
- Giannuzzi, L. (1994). Residuos de Plaguicidas Organoclorados en Papas que se comercializan en la Ciudad de La Plata y Gran La Plata (Argentina). . La Plata : Acta Farm. Bonaerense .
- Gruiz, K., Meggyes, T., & Fenyvesi, É. (Engineering Tools for Environmental Risk Management 2.). 2015.
- Guerrero, D. (2004). Evaluación y estudio del efecto residual de la aplicación de plaguicidas en productos de cosecha Trust Fund for Economic and Technical Cooperation Among Developing Countries Members of The Group of 77. Colombia.

- Gupta, R. (2014). Biomarkers in Toxicology [Biomarcadores en Toxicología]. San Diego, CA: Academic Press-Elsevier, 2014, 1152 pp., ISBN: 9780124046306.
- Iannacone, J., Alvarino, L., Murrugarra, Y., Arrascu , A., Alayo, M., & Salazar, N. (2008). Selectividad del Insecticida Metamidofos en Ocho Organismos Terrestres no destinatarios. *Journal Sociedad Ecotoxicol gica de Brazil* . JBSE: Brasil.
- Iannacone, J., Onofre, C., Huanqui, S., Giraldo, A., Mamani, P., Miglio, T., & Alvarino, F. (2007). Evaluación del Riego Ambiental del Insecticida Metamidofos en Bioensayos con Cuatro Organismos Acuáticos no Destinatarios. Chile: Agricultura Técnica.
- INE Instituto Nacional de Ecologia. (2000). Características de Peligrosidad Ambiental de Plaguicidas. Riesgos Químicos Ambientales. Manual de Trabajo. Obtenido de www.ine.gob.mx
- INEI. (2017). Perú es imbatible en la producción de papa en Latinoamérica. Informe Técnico Perú: Panorama Económico Departamental elaborado con información proporcionada por el Ministerio de Agricultura y Riego, Ministerio de Energía y Minas. Lima. Obtenido de <http://www.minagri.gob.pe/portal/publicaciones-y-prensa/noticias-2017/19273-peru-es-imbatible-en-la-produccion-de-papa-en-latinoamerica>
- Jerez, F. V. (1999). Determinación de pesticidas organoclorados en suelo agrícola y productos agropecuarios de la comuna de Chonchi, provincia de Chiloé. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile, Valdivia.
- Kapustka, I., & Reporter, M. (1993). Terrestrial primary producers en handbook of ecotoxicology, P. Calow (Ed.), Vol. I, Blackwell Scientific Publications. Gran Bret a.
- Malagón, A. (2007). Ecotoxicología Guía Didáctica. Universidad Técnica Particular de Loja. (Segunda Edición ed.). Ecuador: Editorial de la Universidad Técnica Particular de Loja. Obtenido de www.utpl.edu.ec Loja
- Márquez, R. (2008). Introducción a la T xicologia Ambiental Departamento De Ingenieria Quimica Universidad de Concepcion. Chile.
- Martínez Valenzuela, C., & Gómez Arroyo, S. (2007). Riesgo Genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23(4) 185-200, 185-200. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v23n4/v23n4a4.pdf>
- Matsumura, F. (1975). T xicology of pesticides. Plenum Press. New York. Obtenido de <http://www.pharmazy.arizona.edu>
- Mej az, J., & Jerez, J. (2006). Guía para la Toma de Muestras de Residuos de Plaguicidas Agua, Sedimento y Suelo. Temuco: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Ministerio de Agricultura. Gobierno de Chile (ISSN0717-4829). Obtenido de <http://www.sag.cl/sites/default/files/GUIA%2520TOMA%2520MUESTRAS%2520PLAGUICIDAS.pdf>

- Ministerio de Agricultura (MINAG). (2011). Cadena productiva de papa. Manejo y fertilidad de suelos. Guía Técnica de orientación al productor. Lima. Obtenido de <http://agroaldia.minag.gob.pe/biblioteca/download/pdf/agroeconomia/corregidopapa.pdf>
- Ministerio del Ambiente (MINAM). (2014). Guía para muestreo de suelos. Peru: En el marco del D.S. N° 002-2013-MINAM, Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo. Lima.
- Ministerio del Ambiente del Perú (MINAM). (2015). Guía para la elaboración de estudios de Evaluación de Riesgos a la Salud y el Ambiente (ERSA) en sitios contaminados. Lima: En el marco del D.S. N°002-2013-MINAM, que aprueba los ECAs para Suelo. Anexo-R.M. N° 034-2015 - Guía ERSA. Lima. Obtenido de <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2015/02/Anexo-R.M.-N%C2%B0-034-2015-Guia-ERSA.pdf>
- Muñiz Durán, J. (2012). Valoración Toxicológica de Plaguicidas Residuales en papa cultivada: Zonas productoras de Chinchero (Cusco) y Andahuaylas (Apurímac). Tesis para optar al grado de Magister. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco.
- Murcia, A., & Stashenko, E. (2008). Determinación de plaguicidas organofosforados en vegetales producidos en Colombia. Colombia: Agro Sur .
- OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. (1984).). Guideline for the Testing of Chemicals No. 207. Earthworm Acute Toxicity Tests. Paris France.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development. (1989). Report of the OECD workshop on ecological effects assessment. OECD Environment Monographs 26. Paris.
- Omez, G., Baiza, A., & Villalobos, P. (1985). A Comparative Study of the Cytogenetic Effects of the Insecticides Heptachlor, Malathion, and Methyl Parathion in *Vicia faba* L.. Contam. Amb. 1.
- OMS - OPS. (1993). Organización Mundial de la Salud. División Salud y Ambiente. Plaguicidas y salud en las Américas,. Obtenido de <http://www.fao.org/.htm>.
- OMS. (1997). Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues (revised) Prepared by the Global Environment Monitoring System – Food Contamination Monitoring and Assessment. Food consumption and exposure assessment of chemicals. Report of a FAO/WHO. 10-14.
- OMS. (2009). Inventory of IPCS and other WHO pesticide evaluations and summary of toxicological evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) through. Organización Mundial de la Salud. Obtenido de http://www.who.int/ipcs/publications/jmpr/jmpr_pesticide/en/index.html.
- OMS. (2010). Código Internacional de Conducta sobre la Distribución y Utilización de Plaguicidas. Organización Mundial de la Salud .
- OMS-OPS. (2007). Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Serie Vigilancia, 9. Plaguicidas organoclorados. Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización

- Panamericana de la Salud (OPS). Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/005/y4137s/y4137s06.htm>
- Organización Mundial de la Salud. (1996). Sobre Normas Alimentarias Comisión del Codex Alimentarius. (O. M. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación, Ed.) Programa Conjunto FAO/OMS.
- Otalvaro, A., Rey, J., Pérez, H., & Montoya, M. (2015). Residuos de plaguicidas organoclorados en matrices de carne y leche de origen bovino (Edition: 1Publisher ed.). INS Editor: INSISBN. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/305636413_Residuos_de_plaguicidas_organoclorado
- PAN. (2020). Database. Pesticide Action Network North America. Obtenido de <http://www.pesticideinfo.org/Index.html>
- Pastor, S. (2002). Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas Eusopeas expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronucleos. Tesis doctoral. Barcelona.
- Pauta Calle, G. (s.f.). Estudio Integral de la calidad del agua del rio Burgay y Evaluacion del riesgo toxicologico por la probable presencia de plaguicidas. Tesis de maestría. Universidad de Cuenca, Cuenca. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/19831>
- Peña Cordova, K. ((2018).). Evaluación de riesgo ambiental de los pesticidas Metamidofos, Alfa-cipermetrina y su Mezcla en Eisenia andrei . Evaluación de riesgo ambiental de los pesticidas Metamidofos, Alfa-cipermetrina y su Mezcla en Eisenia andrei . UNALM, UNALM. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3529/pe%c3%b1a-cordova-katherin-deira.pdf?sequence=5&isAllowed=y>
- Peña, E., Carter, E., & Ayala Fierro, F. (2001). Toxicología Ambiental: Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental.Southwest Hazardous Waste ProgramA Superfund Basic Research and Training ProgramAt the College of Pharmacy The University of Arizona. a r i z o n a .
- Piola, L. (2011). Ensayos Ecotoxicológicos para la evaluación del impacto de plaguicidas en suelos agricolas de Argentina. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires., Argentina, Argentina. Obtenido de http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4887_Piola.pdf
- PNUMA. (2003). GEO América Latina y el Caribe. Perspectivas del medio ambiente 2003. Caribe.
- PNUMA/FAO/OMS. (1990). Orientaciones para predecir la ingesta alimentaria de residuos de plaguicidas .
- Quispe Cárdenas, L. E. (2017). Riesgo exotoxicológico y genotóxico de plaguicidas utilizados en cultivo de papa en Chinchero-Cusco. Tesis para optar al Título Profesional. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco., Chinchero-Cusco.

- Ramírez, D., Zuluaga, A., & Gómez, E. (2008). Evaluación del riesgo de contaminación por metamidofos en la microcuenca el salto del Municipio de el Santuario. *Revista EIA*, 165-180.
- Ramírez, J., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medicación de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*.
- Ramírez, M. (2009). Determinación de pesticidas en vegetales mediante cromatografía de gases-espectrometría de masa/masa (GC-MS/MS). TESIS Para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Huajuapán de León, Oaxaca, México.
- RAP-AL. (2008). Plaguicidas con Prontuario. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina Oficina de Comunicaciones y Administración. Obtenido de <http://www.rap-al.org>. pp 11.
- Repetto, J., & Repetto, K. (2009). *Toxicología Fundamental 4a Edición*. Edit. Díaz de Santos. España: Edit. Díaz de Santos.
- Sánchez C., M. (2010). Contaminación por agroquímicos en cultivos agrícolas y su legislación en el Perú. Perú. Lima. Obtenido de http://www.senasa.gob.pe/importador_exportador/servicios/plaguicidas/Plaguicidas.htm
- Sánchez Martín, M., & Sánchez Camazano, M. (1984). Adsorción y Evolución en el Suelo. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología. Obtenido de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/12919/1/plaguicidas.pdf>
- Sánchez, O. (2008). Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo de arroz en el Parque Natural de la Albufera de Valencia. Tesis para optar al grado de doctor. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/2342/tesisUPV2815.pdf>
- Sánchez, P., Pablos, M., Valdovinos, C., Bay-Schmith, E., Tarazona, J., & Larrain, A. (2000). Los bioensayos como instrumentos legales en la gestión medioambiental. En: *Globalización medioambiental. Perspectivas agrosanitarias y urbanas*. Secretaría General Técnica. Secretaría General Técnica. Madrid.
- Schaefer, M. (2003). Behavioural endpoints in earthworm ecotoxicology. *Journal of Soils and Sediments*. *Journal of Soils and Sediments*, . Obtenido de <https://doi.org/10.1007/BF02991072>
- SENASA. (2009). Plaguicidas Obtenido . Obtenido de SENASA: http://www.senasa.gob.pe/importador_exportador/servicios/plaguicidas/Plaguicidas.htm
- Serrano, M., Torrado, L., & Pérez, D. (2013). Impacto de los derrames de crudo en las propiedades mecánicas de suelos arenosos. *Ciencia y Tecnología*.
- SIMUVIMA/Alimentos. (1997). Orientaciones para predecir la ingestión alimentaria de residuos plaguicidas .

- Stachenko, E., & Martínez, J. (2009). Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Bucaramanga, Colombia: Selectividad e identificación (3 ed., Vol. 1.
- Sutter, G. (1993). Ecological Risk Assessment. Florida, USA: Boca Raton.
- Tapia, M., & Fries, A. (2007). Guía de Campo de los Cultivos Andinos. Lima: FAO y ANPE. 1ra Edición. Lima. 209pp.
- Tarazona Lafarga, J. (2007). Manual de Evaluación y Gestión del Riesgo asociado a los COP. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. República de Colombia. Colombia. Obtenido de http://siscop.inecc.gob.mx/descargas/pnis/colombia_evaluacion_y_gestion_del_risgo.pdf.
- Tecuapetla Vargas, M. (2014). Ecotoxicidad producida por agroquímicos empleados en cultivo de *Gebera jamensonii* en invernadero, en Villa Guerrero, Estado de México. Tesis para optar al grado de Maestra. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México. Obtenido de <https://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14895/Tesis.417957.pdf?sequence=1>
- Uribe Hernández, R. (2008). Ensayos Tóxicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelos. La experiencia en México. México. Obtenido de <http://www.walterreeves.com/tools-andchemicals/pesticide-toxicity-to-earthworms/>
- US EPA 712-C-96-154. (1996). Seed germination / root elongation toxicity test. Ecological effects test guidelines. Washington. Obtenido de <http://www.hindawi.com/journals/aess/2010/678360.html>.
- US-EPA. (1998). Environmental Protection Agency. Guidelines for ecological risk assessment. Risk assessment forum. Washington, Estados Unidos. Obtenido de https://www.epa.gov/sites/production/files/201411/documents/eco_risk_assessment1998.pdf
- US-EPA. (2006). United States Environmental Protection Agency. National Recommended Water Quality Criteria. Office of Water, Office of Science and Technology. Obtenido de <http://epa.gov/waterscience/criteria/nrwqc-2006.pdf>
- USEPA. (United State Environmental Agency). (1992). Framework for ecological risk assessment. USEPA. Obtenido de <https://doi.org/10.1897/1552-8618>
- Verger, P. (2013). Risk analysis paradigm and Total diet studies. In G. G. Moy & R. W. Vannoort (Eds.).
- WHO. (1997). Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues (revised) global environment monitoring system – food contamination monitoring and assessment programme (GEMS/Food) in collaboration with Codex Committee on pesticide residues.

Yzarra, W., & López, F. (2011). Manual de Observaciones Fenológicas. SENAMHI.

Zaragoza-Bastida, Adrián, Valladares-Carranza, Benjamín, Ortega-Santana, C., Zamora-Espinosa, J., . . . Aparicio-Burgos, J. (2016). Repercusiones del uso de los organoclorados sobre el ambiente y salud pública. *Abanico veterinario*. . *Abanico veterinario*. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S244861322016000100043&lg=es&tlng=es

ANEXOS

ANEXO 1. Ficha Técnica de Clorotalonil

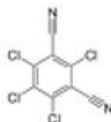
FICHA TECNICA BRAVO 720 SC

DATOS DE LA EMPRESA

Empresa Comercializadora : FARMAGRO S.A.
Titular de Registro : SYNGENTA CROP PROTECTION S.A.
Número de Registro : PQUA N° 075-SENASA

IDENTIDAD

Composición : Chlorotalonil
Concentración : 720 g/L
Formulación : Suspensión concentrada
Grupo Químico : Cloronitrilos
Clase de Uso : Fungicida
Fórmula Empírica : $C_6Cl_4N_2$
Peso Molecular (g/mol) : 265.91
Fórmula Estructural :



CARACTERÍSTICAS

Bravo 720 SC es un fungicida perteneciente al grupo de los Cloronitrilo, es de acción preventiva y de contacto; su nueva formulación bajo la tecnología Weather Stock permite que presente una mejor adherencia sobre la superficie de la planta, brindando así un mayor número de días de protección.

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

•Densidad : 1.345 g/ml a 20 °C
•pH : 6.5 – 9.5
•Estado Físico : Líquido
•Color : Blanco apagado a castaño ligero
•Olor : Ligeramente agrio, suave
•Explosividad : No explosivo
•Corrosividad : No corrosivo
•Estabilidad en Almacenamiento : Es estable bajo condiciones normales de manipulación y almacenamiento por 2 años.

MODO DE ACCION

Bravo 720 SC actúa por contacto.

MECANISMO DE ACCION

Bravo 720 SC inhibe el proceso de respiración (conversión de carbohidratos en energía) de las células del hongo mediante un enlace rápido de las moléculas de clorotalonil con grupos sulfidrilos, deteniendo la producción de energía, el crecimiento y provocando la muerte del individuo.

RECOMENDACIONES DE USO

CULTIVO	ENFERMEDAD		Dosis (ml/200 l)	PC (días)	LMR (ppm)
	Nombre común	Nombre científico			
Páprika	Mancha de la hoja	<i>Alternaria spp.</i>	400-500	12	0.01
Cebolla	Mildiu	<i>Peronospora destructor</i>	350	7	0.5
Cebolla	Mancha del peral	<i>Stemphylium vesicarium</i>	350-700	7	0.5
Espárrago	Roña del espárrago	<i>Puccinia asparagi</i>	350-500	ND	0.01
Espárrago	Cercosporiasis	<i>Cercospora asparagi</i>	400-500	ND	0.01
Espárrago	Mancha del peral	<i>Stemphylium vesicarium</i>	350-400	30	0.01
Marigold	Mancha de la hoja	<i>Alternaria spp.</i>	400-500	NA	NA
Papa	Hielo	<i>Phytophthora infestans</i>	400	7	0.2
Papa	Tizón temprano	<i>Alternaria solani</i>	400	7	0.01
Arveja	Antracnosis	<i>Colletotrichum blightis</i>	500	1	0.01

P.C: Período de Carencia LMR: Límite máximo de residuos
ND: No Determinado / NA: No aplica por no tratarse de un cultivo alimenticio

CONDICIONES DE APLICACIÓN

Para obtener un control óptimo **Bravo 720 SC** debe ser aplicado preventivamente o tan pronto se observen los primeros síntomas de la enfermedad. El intervalo de aplicación puede variar entre 5 a 7 días.

COMPATIBILIDAD

Bravo 720 SC no debe combinarse con plaguicidas, surfactantes o fertilizantes a menos que la experiencia muestre que la combinación es físicamente compatible, efectiva y no causa daños al cultivo en el que se va a utilizar. No debe ser mezclado con aceites o aplicado a cultivos que hayan sido tratados con aceite en por lo menos 10 días.

REINGRESO A UN ÁREA TRATADA

No ingresar a las áreas tratadas hasta 24 horas después de la aplicación.

FITOTOXICIDAD

Bravo 720 SC no es fitotóxico siguiendo las recomendaciones de la etiqueta.

CATEGORIA TOXICOLÓGICA

Moderadamente peligroso.

FARMAGRO

HELIOS PRODUCTOS PARA HELIOS COSECHA

FARMAGRO

HELIOS PRODUCTOS PARA HELIOS COSECHA

ANEXO 2. Ficha Técnica de Metamidafos

	NORMA DE SEGURIDAD	Código: 00-095-90-00-02 Revisión: 04 Aprobación: 28 Fecha: 17/08/2002 Página: 2 de 9
	LASSER [®]	

	NORMA DE SEGURIDAD	Código: 00-095-90-00-02 Revisión: 04 Aprobación: 28 Fecha: 17/08/2002 Página: 2 de 9
	LASSER [®]	

LASSER 600 (Metamidafos)		
I. IDENTIFICACION DEL PRODUCTO Y DE LA EMPRESA		
Identificación del producto:	NOMBRE COMERCIAL: METAMIDAFOS NOMBRE QUÍMICO: 600 (LASSER) Moléculas: 25, 50, 75, 100 y 150 g/l (concentrados)	
Tipo de formulación:	Concentrado Líquido SL	
Uso:	Insecticida Agrícola	
Identificación del fabricante / distribuidor:	SILVESTRE S.A.S. Calle 140 No. 100 - Medellín - Calle 18 - Barrio Sanabria - 0511411000 Fax: 0511411000	
La empresa de emergencia:	LASSER 600 (LASSER) 0511411000	
II. COMPOSICIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE LOS CONCENTRADOS		
Concentrado	Formulación	ACTIVO
Concentrado	600 g/l	60000 mg/l
Agente	4 g/l	---
Concentrado	750 g/l	---
Identificación del ingrediente activo:		
Forma química:	Formulación líquida	
Presentación:	1 L (1 litro) por envase	
Identificación CAS:	60000 mg/l	
III. IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS		
Manejo del producto: Evitar el contacto con la piel, ojos y ropa.		
Manejo para el usuario:		
<p>La sustancia de LASSER 600 es una forma líquida blanca que se comercializa en envases plásticos, aluminio, cartón o plástico. Este producto se comercializa en concentrados, los cuales se deben utilizar de acuerdo con el etiquetado. El usuario debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado. El usuario debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado. El usuario debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado.</p> <p>Se debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado. El usuario debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado. El usuario debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado. El usuario debe utilizar el producto de acuerdo con el etiquetado.</p>		


Código: 00-095-90-00-02
Revisión: 04
Aprobación: 28
Fecha: 17/08/2002
Página: 2 de 9

Página 2 de 9

IV. MANEJO DE EMERGENCIAS	
Polvo o Sólido Inhalable:	En caso de inhalación de polvo, trasladarse a un lugar fresco y respirar aire fresco. Si los síntomas persisten, buscar atención médica inmediata.
V. MANEJO DE EMERGENCIAS	
Exposición:	Trabaja en una zona o ambiente de trabajo fresco y en un ambiente bien ventilado. Evita el contacto con la piel y la ropa.
Exposición en el agua:	Si el producto entra en contacto con la piel, lavar inmediatamente con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con los ojos, lavar con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con la ropa, lavar inmediatamente.
Exposición en el suelo:	Lavar inmediatamente con agua abundante por 15 a 20 minutos. Si el producto entra en contacto con la ropa, lavar inmediatamente.
Exposición:	No debe ser ingerido. Evitar el contacto con la piel y la ropa. Si el producto entra en contacto con la piel, lavar inmediatamente con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con los ojos, lavar con agua abundante y jabón.
Exposición para el medio ambiente:	Evitar el contacto con el agua, el suelo y la vegetación.
Exposición - Tratamiento:	En caso de exposición, lavar inmediatamente con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con la piel, lavar inmediatamente con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con los ojos, lavar con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con la ropa, lavar inmediatamente.
VI. MANEJO DE EMERGENCIAS	
Exposición de inhalación:	Exposición de vapor, con el producto o con el agente activo, puede ser peligrosa.
Exposición en el agua:	Evitar el contacto con el agua y el suelo. Si el producto entra en contacto con el agua, lavar inmediatamente con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con el suelo, lavar inmediatamente.
Exposición en el suelo:	Evitar el contacto con el agua y el suelo. Si el producto entra en contacto con el agua, lavar inmediatamente con agua abundante y jabón. Si el producto entra en contacto con el suelo, lavar inmediatamente.
Exposición en el medio ambiente:	Evitar el contacto con el agua, el suelo y la vegetación.

Código: 00-095-90-00-02
Revisión: 04
Aprobación: 28
Fecha: 17/08/2002
Página: 2 de 9

Página 2 de 9

	NOMBRE DE SEGURIDAD LASSER <small>600</small>	Código: 00-070-60-00-03 Revisión: 00 Aprobado: 00 Fecha: 17/06/2010 Página 4 de 6
		

	NOMBRE DE SEGURIDAD LASSER <small>600</small>	Código: 00-070-60-00-03 Revisión: 00 Aprobado: 00 Fecha: 17/06/2010 Página 5 de 6
		

Equipos de protección personal: - Usar un equipo de protección personal completo.	
Precaución respiratoria: - Respirador o mascarilla.	
Precaución visual: - Goggles o lentes a prueba de impactos o lentes.	
Uso de equipo de protección: - Usar equipo de protección personal, respirador, óculos, guantes y casco.	
Almacenamiento de residuos: - Almacenar en un lugar seguro.	
SEGUIR SIEMPRE LAS INSTRUCCIONES DE LA ETIQUETA (UNIDAD DE MEDIDA COEFICIENTE).	
II. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS	
Nombre: LASSER 600 Código: 00-070-60-00-03 Composición: 100% agua Color: Incoloro Forma: Líquido	Estado: Líquido Color: Incoloro Oloror: Sin olor Forma: Líquido Composición: 100% agua Almacenamiento: En un lugar seguro.
III. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD	
Estabilidad: Estable a temperatura ambiente de 15°C a 25°C.	
Compatibilidad: No reacciona con otros productos químicos.	
IV. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA	
Toxicidad oral: LD50 en ratón: 10.0 mg/kg de peso corporal. Toxicidad dérmica: LD50 en ratón: 10.0 mg/kg de peso corporal. Toxicidad por inhalación: LC50 en ratón: 10.0 mg/m³ de peso corporal. Clasificación: No clasificado. Etiquetado: No clasificado. Precauciones: No clasificado.	Toxicidad oral: LD50 en ratón: 10.0 mg/kg de peso corporal. Toxicidad dérmica: LD50 en ratón: 10.0 mg/kg de peso corporal. Toxicidad por inhalación: LC50 en ratón: 10.0 mg/m³ de peso corporal. Clasificación: No clasificado. Etiquetado: No clasificado. Precauciones: No clasificado.
V. INFORMACIÓN ECOTOXICOLÓGICA	
Toxicidad acuática: LC50 en pez: 10.0 mg/l de peso corporal. Toxicidad en aves: LD50 en ave: 10.0 mg/kg de peso corporal. Toxicidad en mamíferos: LD50 en mamífero: 10.0 mg/kg de peso corporal.	Toxicidad acuática: LC50 en pez: 10.0 mg/l de peso corporal. Toxicidad en aves: LD50 en ave: 10.0 mg/kg de peso corporal. Toxicidad en mamíferos: LD50 en mamífero: 10.0 mg/kg de peso corporal.
Precauciones generales: Evitar el contacto con la piel, los ojos y la ropa. Evitar la ingestión. Evitar el contacto con superficies metálicas. Evitar el contacto con superficies de madera. Evitar el contacto con superficies de plástico. Evitar el contacto con superficies de vidrio. Evitar el contacto con superficies de cerámica. Evitar el contacto con superficies de metal. Evitar el contacto con superficies de aluminio. Evitar el contacto con superficies de cobre. Evitar el contacto con superficies de zinc. Evitar el contacto con superficies de hierro. Evitar el contacto con superficies de níquel. Evitar el contacto con superficies de cromo. Evitar el contacto con superficies de manganeso. Evitar el contacto con superficies de cobalto. Evitar el contacto con superficies de níquel. Evitar el contacto con superficies de cromo. Evitar el contacto con superficies de manganeso. Evitar el contacto con superficies de cobalto.	
VI. COMERCIALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DEL PRODUCTO	

VI. INFORMACIÓN ADICIONAL	
Tratamiento de residuos: - Recoger en un recipiente adecuado y enviarlo a un lugar seguro.	Tratamiento de residuos: - Recoger en un recipiente adecuado y enviarlo a un lugar seguro.
III. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE	
Clasificación de riesgo: No clasificado.	
Etiquetado: No clasificado.	
Precauciones: No clasificado.	
IV. INFORMACIÓN REGULACIONARIA	
Clasificación: No clasificado.	Clasificación: No clasificado.
Etiquetado: No clasificado.	Etiquetado: No clasificado.
Precauciones: No clasificado.	Precauciones: No clasificado.

Calle: Av. 10 de Agosto, 1000 - Lima 10 - Perú. Teléfono: (01) 471 0000. Fax: (01) 471 0000.
 Correo electrónico: info@gruposilvestre.com.pe - Página web: www.gruposilvestre.com.pe

Fuente: http://www.silvestre.com.pe/site/images/Fichas_Tecnicas/FT_LASSER_600_06.pdf

ANEXO 3. Resultados de Plaguicidas Organoclorados y Organofosforados en papa cultivada en Chinchero-Cusco



FRACTAL QUÍMICOS

RUC 10238508547 - Mariscal Luzuriaga 345 int I
Jesús María (Lima 11) - PERÚ - Tlf. 4231669

E-mail: fractalquimicos@terra.com.pe

■ INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO - ASESORIA CIENTÍFICA - LABORATORIOS, APARATOS CIENTÍFICOS Y REACTIVOS ■

RESUMEN DE RESULTADOS - PAPAS

ORGANO CLORADOS-OCL Y ORGANO FOSFORADOS-OP (GC-FID)

(mg/kg = ppm)

CODIGO MUESTRA*	ORGANOFOSFORADOS (ppm)					ORGANOCOLORADOS (ppm)				
	METAMIDAFOS	PARATION	DIAZINON	MALATION	CLORPIRIFOS	DICLORVOS	CLOROTANOLIL	HEPTACLORO	ENDOSULFAN	DDT
CHYPA01	1.2 ± 0,006	0.098 ± 0.031	0.011 ± 0.001	1.33 ± 0,03	1.679 ± 0,006	ND	0.281 ± 0,010	0.013 ± 0,08	0.079 ± 0,034	ND
CHYPA02	2.02 ± 0,12	0.094 ± 0.013	ND	0.96 ± 0,035	ND	0.006 ± 0,02	0.314 ± 0,006	0.022 ± 0,012	0.134 ± 0,032	ND
CHYPA03	1.23 ± 0,13	0.166 ± 0.006	ND	0.08 ± 0,032	ND	ND	0.243 ± 0,065	0.016 ± 0,016	0.106 ± 0,025	ND
CHHPA04	2.41 ± 0,63	0.011 ± 0,63	ND	1.62 ± 0,035	0.437 ± 0,09	ND	<0.003	0.015 ± 0,09	0.096 ± 0,031	ND
CHHPA05	0.68 ± 0,31	0.031 ± 0,13	0.01 ± 0,002	0.5 ± 0,03	0.539 ± 0,032	0.006 ± 0,03	0.143 ± 0,013	0.014 ± 0,031	0.064 ± 0,048	ND
CHHPA06	<0,003	0.164 ± 0,006	ND	0.74 ± 0,09	ND	ND	0.147 ± 0,084	0.023 ± 0,063	0.073 ± 0,035	ND
CHAPA07	0.87 ± 0,12	0.137 ± 0,12	0.01 ± 0,04	0.05 ± 0,035	ND	ND	0.213 ± 0,14	0.015 ± 0,014	0.084 ± 0,034	ND
CHAPA08	<0,003	0.011 ± 0,12	ND	1.73 ± 0,024	1.892 ± 0,09	0.006 ± 0,02	0.098 ± 0,024	0.018 ± 0,012	0.101 ± 0,032	ND
CHAPA09	1.25 ± 0,14	0.034 ± 0,09	ND	1.23 ± 00,24	1.976 ± 0,09	0.006 ± 0,01	0.16 ± 0,012	0.032 ± 00,87	0.097 ± 0,025	ND

mg/kg: miligramos por kilogramo de muestra original

ppm: partes por millón en masa

ND: no detectable-inferior a 0,002 mg/kg en la muestra original (GC-FID)

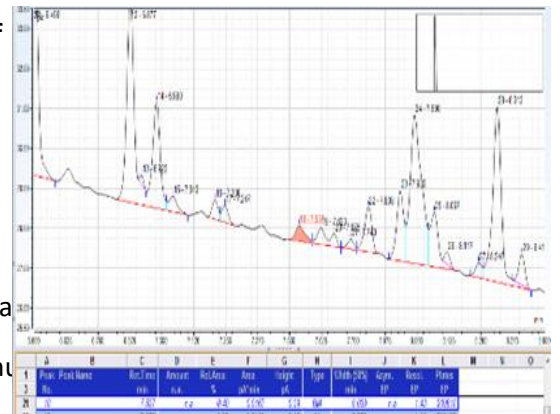
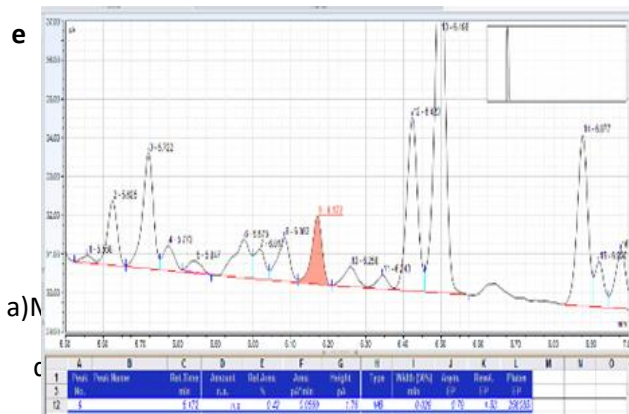
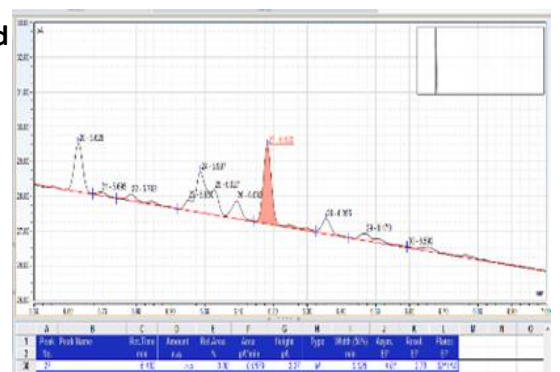
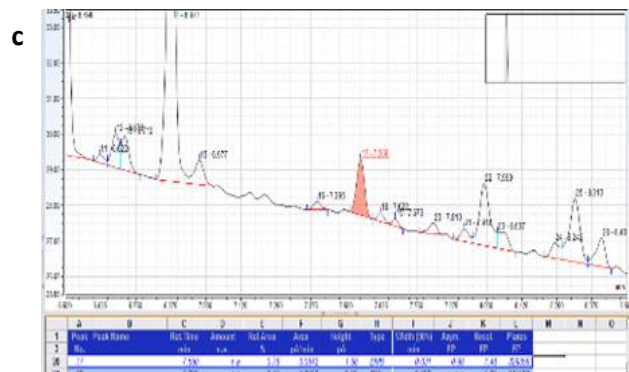
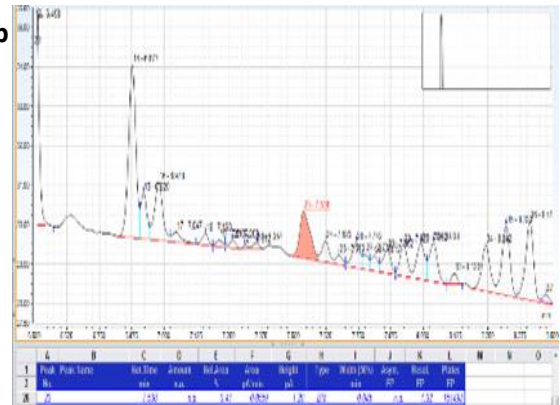
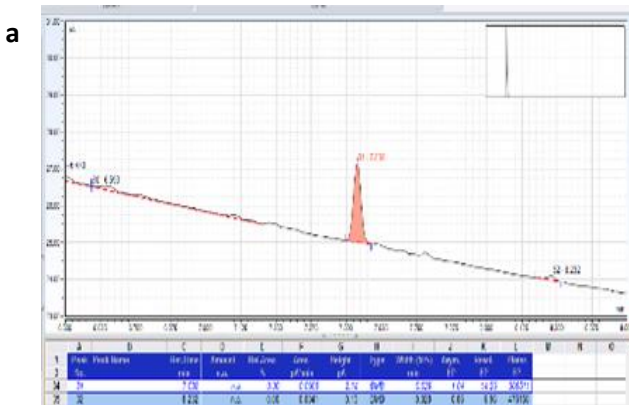
ND*: no detectable-inferior a 0,010mg/kg en la muestra original (HPLC-DAD)

* código de muestras establecido por solicitante.

Lima, 25 de octubre de 2017



ANEXO 4. Análisis de Plaguicidas Residuales: Cromatogramas de Algunas Muestras de Papa



a) Muestra de papa

b) Muestra de papa

c) Muestra de papa

d) Muestra de papa

e) Muestra de papa

f) Muestra de papa

ANEXO 5. Resultados de Análisis de Plaguicidas Organoclorados y Organofosforados en Suelos de Cultivo de papa en Chinchero-Cusco



E-mail: fractalquimicos@terra.com.pe

■ INVESTIGACION Y DESARROLLO – ASESORIA CIENTÍFICA – LABORATORIOS, APARATOS CIENTÍFICOS Y REACTIVOS ■

RESUMEN DE RESULTADOS - SUELOS

ORGANO CLORADOS-OCL Y ORGANO FOSFORADOS-OP (GC-FID)
(mg/kg = ppm)

CODIGO MUESTRA	ORGANOFOSFORADOS (ppm)					ORGANOCLORADOS (ppm)				
	PARATION	METAMIDOFOS	DIAZENON	MALATION	CLORPIRIFOS	DICLORVOS	CLOROTANOLIL	HEPTACLORO	ENDOSUFAN	DDT
CHYSU01	1.2 ± 0,05	0.1 ± 0,05	ND	1.33 ± 0,27	ND	<0.003	0.181 ± 0,010	0.023 ± 0,08	0.211 ± 0,020	<0.003
CHYSU02	0.95 ± 0,12	0.05 ± 0,35	ND	1.96 ± 0,20	ND	<0.003	0.414 ± 0,006	0.042 ± 0,12	0.374 ± 0,020	<0.003
CHYSU03	1.23 ± 0,16	0.07 ± 0,35	ND	2.78 ± 0,46	ND	ND	0.325 ± 0,65	0.076 ± 0,96	0.032 ± 0,075	<0.003
CHHSU04	1.41 ± 0,21	0.09 ± 0,10	ND	1.62 ± 0,13	ND	ND	<0.003	0.055 ± 0,09	ND	ND
CHHSU05	0.68 ± 0,31	0.04 ± 0,06	ND	1.50 ± 0,23	ND	<0.003	0.343 ± 0,013	0.014 ± 0,31	0.412 ± 0,021	ND
CHHSU06	1.36 ± 0,06	0.11 ± 0,07	ND	2.74 ± 0,65	ND	<0.003	0.147 ± 0,84	0.043 ± 0,63	0.632 ± 0,74	<0.003
CHASU07	0.83 ± 0,23	0.04 ± 0,43	ND	1.25 ± 0,31	ND	ND	<0.003	0.03 ± 0,14	0.445 ± 0,74	ND
CHASU08	0.92 ± 0,13	0.09 ± 0,43	ND	1.73 ± 0,20	ND	<0.003	<0.003	0.018 ± 0,12	0.566 ± 0,74	<0.003
CHASU09	1.45 ± 0,13	0.06 ± 0,43	ND	2.23 ± 0,87	ND	ND	<0.003	0.032 ± 0,87	0.435 ± 0,74	ND

mg/kg: miligramos por kilogramo de muestra original

ppm: partes por millón en masa

ND: no detectable-inferior a 0,002 mg/kg en la muestra original (GC-FID)

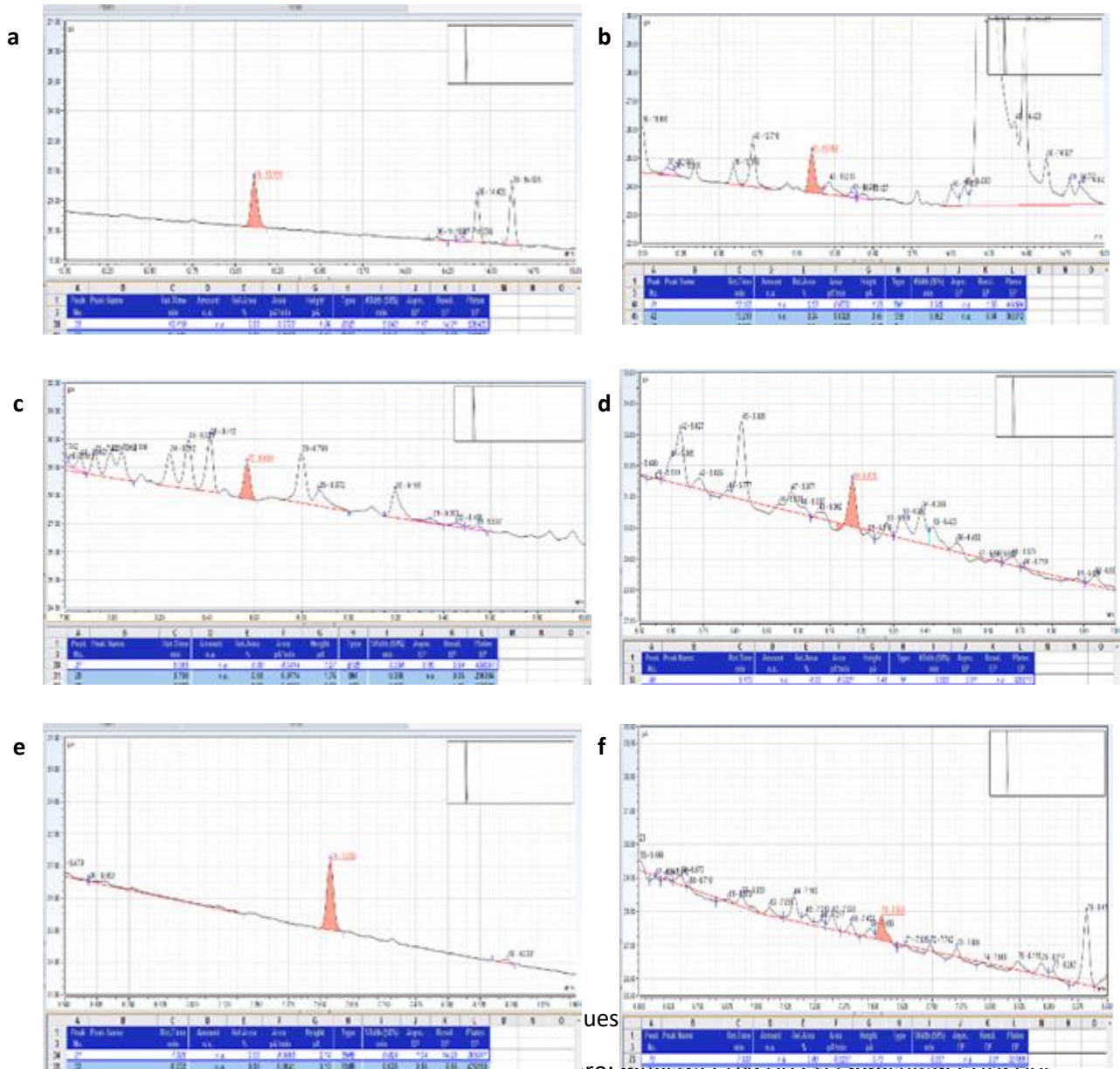
ND*: no-detectable-inferior a 0,010mg/kg en la muestra original (HPLC-DAD)

* código de muestras establecido por solicitante

Lima, 25 de octubre de 2017



ANEXO 6. Análisis de Plaguicidas Residuales: Cromatogramas de algunas Muestras de Suelo



a) chlorotanol, muestra CH5002 y heptacloro: muestra CH5003 f) Endosulfan CH5005

ANEXO 7. Tabla de Datos del Efecto de Metamidafos en la Germinación y Crecimiento Radicular (mm) de *Vicia faba*

N°	Concentracion de METAMIDAFOS (ppm)														
	0	0.49	0.98	1.95	3.9	7.81	15.63	31.25	62.5	125	250	500	1000	2000	4000
1	312.00	310.00	243.00	286.00	298.00	286.00	245.00	223.00	143.00	111.00	102.00	78.00	74.00	28.00	32.00
2	292.00	291.00	217.00	276.00	286.00	248.00	200.00	152.00	142.00	106.00	100.00	81.00	63.00	38.00	22.00
3	275.00	308.00	204.00	211.00	216.00	203.00	196.00	170.00	132.00	100.00	98.00	82.00	69.00	32.00	30.00
4	256.00	298.00	287.00	210.00	207.00	210.00	178.00	165.00	136.00	108.00	96.00	75.00	78.00	36.00	30.00
5	289.00	286.00	264.00	234.00	243.00	209.00	176.00	145.00	112.00	102.00	86.00	76.00	65.00	34.00	21.00
6	302.00	286.00	234.00	211.00	221.00	201.00	223.00	188.00	160.00	123.00	93.00	87.00	62.00	32.00	0.00
7	312.00	276.00	263.00	234.00	234.00	254.00	167.00	150.00	154.00	106.00	102.00	90.00	58.00	28.00	0.00
8	287.00	243.00	278.00	254.00	232.00	234.00	121.00	168.00	150.00	100.00	98.00	78.00	54.00	27.00	0.00
9	264.00	221.00	215.00	243.00	234.00	254.00	165.00	165.00	158.00	100.00	83.00	74.00	61.00	27.00	0.00
10	275.00	234.00	286.00	221.00	232.00	214.00	163.00	150.00	143.00	100.00	92.00	79.00	58.00	34.00	0.00
11	286.00	232.00	276.00	209.00	254.00	213.00	198.00	157.00	142.00	106.00	98.00	80.00	57.00	25.00	0.00
12	275.00	234.00	243.00	265.00	234.00	243.00	112.00	152.00	132.00	112.00	88.00	84.00	63.00	32.00	0.00
13	287.00	232.00	354.00	264.00	276.00	201.00	185.00	170.00	136.00	108.00	110.00	83.00	59.00	35.00	0.00
14	265.00	254.00	234.00	278.00	243.00	270.00	183.00	165.00	125.00	100.00	91.00	82.00	64.00	31.00	0.00
15	278.00	287.00	243.00	265.00	217.00	221.00	176.00	176.00	160.00	118.00	89.00	78.00	65.00	0.00	0.00
16	264.00	276.00	234.00	262.00	204.00	213.00	184.00	167.00	154.00	95.00	98.00	81.00	62.00	0.00	0.00
17	277.00	234.00	232.00	262.00	287.00	202.00	185.00	150.00	150.00	100.00	88.00	79.00	0.00	0.00	0.00
18	284.00	243.00	254.00	287.00	264.00	251.00	211.00	166.00	158.00	113.00	100.00	80.00	0.00	0.00	0.00
19	287.00	278.00	287.00	265.00	234.00	213.00	134.00	165.00	165.00	135.00	97.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20	264.00	275.00	276.00	213.00	263.00	202.00	167.00	150.00	160.00	103.00	94.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	234.00	243.00	234.00	265.00	221.00	224.00	167.00	160.00	154.00	100.00	95.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22	257.00	243.00	243.00	262.00	215.00	213.00	165.00	154.00	150.00	125.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23	278.00	287.00	243.00	232.00	217.00	211.00	198.00	145.00	152.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24	254.00	265.00	217.00	245.00	204.00	223.00	163.00	137.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25	243.00	298.00	204.00	234.00	213.00	208.00	160.00	140.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
26	253.00	264.00	287.00	248.00	264.00	201.00	198.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
27	287.00	282.00	264.00	218.00	234.00	287.00	143.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	265.00	275.00	264.00	265.00	213.00	256.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
29	298.00	285.00	263.00	243.00	208.00	216.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
30	237.00	289.00	278.00	211.00	215.00	252.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Prom	274.57	267.63	254.03	245.77	236.10	227.77	158.77	134.33	112.27	79.03	66.60	48.23	33.73	14.63	4.50
Max	312.00	310.00	354.00	287.00	298.00	287.00	245.00	223.00	165.00	135.00	110.00	90.00	78.00	38.00	32.00
%IG	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	16.67	23.33	26.67	30.00	40.00	46.67	53.34	83.33
%ICR	0.00	2.53	7.48	10.49	14.01	17.05	42.18	51.07	59.11	71.22	75.74	82.43	87.71	94.67	98.36

ANEXO 8. Tabla de Datos del Efecto de Clorotanilil en la Germinación y Crecimiento Radicular (mm) de *Vicia faba*.

N°	Concentración de CLOROTANILIL (ppm)														
	0	0.49	0.98	1.95	3.9	7.81	15.63	31.25	62.5	125	250	500	1000	2000	4000
1	312.00	310.00	276.00	286.00	286.00	286.00	245.00	180.00	143.00	122.00	85.00	86.00	64.00	32.00	13.00
2	292.00	291.00	200.00	276.00	298.00	248.00	200.00	162.00	112.00	103.00	96.00	93.00	73.00	23.00	15.00
3	232.00	308.00	287.00	243.00	225.00	286.00	196.00	152.00	132.00	114.00	98.00	98.00	63.00	22.00	18.00
4	256.00	298.00	189.00	265.00	265.00	210.00	178.00	154.00	116.00	108.00	86.00	89.00	74.00	23.00	11.00
5	289.00	286.00	221.00	234.00	278.00	209.00	176.00	156.00	125.00	100.00	81.00	85.00	75.00	21.00	10.00
6	302.00	286.00	286.00	265.00	264.00	304.00	167.00	150.00	160.00	118.00	94.00	92.00	55.00	32.00	0.00
7	312.00	276.00	298.00	234.00	298.00	254.00	167.00	160.00	154.00	106.00	90.00	81.00	61.00	28.00	0.00
8	287.00	243.00	225.00	254.00	286.00	234.00	189.00	154.00	150.00	100.00	86.00	84.00	58.00	36.00	0.00
9	189.00	221.00	265.00	243.00	287.00	311.00	187.00	145.00	158.00	100.00	84.00	88.00	60.00	27.00	0.00
10	221.00	234.00	278.00	287.00	289.00	298.00	197.00	142.00	104.00	112.00	85.00	96.00	60.00	22.00	0.00
11	286.00	232.00	264.00	256.00	298.00	289.00	178.00	140.00	103.00	110.00	99.00	99.00	58.00	22.00	0.00
12	298.00	234.00	298.00	265.00	284.00	243.00	198.00	152.00	123.00	107.00	98.00	84.00	71.00	32.00	0.00
13	225.00	232.00	286.00	264.00	278.00	312.00	185.00	170.00	104.00	115.00	99.00	86.00	63.00	26.00	0.00
14	265.00	254.00	287.00	278.00	264.00	270.00	183.00	165.00	128.00	106.00	95.00	84.00	70.00	32.00	0.00
15	278.00	287.00	289.00	265.00	275.00	267.00	217.00	176.00	140.00	108.00	97.00	88.00	68.00	21.00	0.00
16	235.00	276.00	298.00	262.00	265.00	287.00	184.00	167.00	142.00	108.00	96.00	76.00	53.00	0.00	0.00
17	298.00	234.00	284.00	262.00	210.00	265.00	124.00	150.00	142.00	114.00	94.00	84.00	54.00	0.00	0.00
18	286.00	243.00	278.00	287.00	265.00	251.00	174.00	168.00	111.00	110.00	92.00	80.00	67.00	0.00	0.00
19	287.00	278.00	264.00	265.00	298.00	286.00	187.00	165.00	165.00	127.00	93.00	94.00	0.00	0.00	0.00
20	289.00	275.00	275.00	298.00	289.00	202.00	187.00	150.00	160.00	103.00	89.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	298.00	243.00	265.00	265.00	268.00	224.00	167.00	114.00	154.00	100.00	98.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22	284.00	243.00	287.00	262.00	243.00	276.00	210.00	154.00	150.00	105.00	83.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23	278.00	287.00	265.00	287.00	217.00	278.00	198.00	145.00	165.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24	215.00	265.00	298.00	245.00	204.00	223.00	163.00	132.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25	243.00	298.00	289.00	234.00	287.00	238.00	210.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
26	211.00	264.00	243.00	248.00	264.00	275.00	198.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
27	287.00	282.00	243.00	278.00	234.00	287.00	187.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	265.00	275.00	275.00	265.00	263.00	256.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
29	298.00	285.00	202.00	243.00	278.00	298.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
30	289.00	289.00	265.00	265.00	215.00	252.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Prom	270.23	267.63	266.00	262.70	265.83	263.97	168.40	123.43	104.70	79.87	67.27	55.57	38.23	13.30	2.23
Max	312.00	310.00	298.00	298.00	298.00	312.00	245.00	180.00	165.00	127.00	99.00	99.00	75.00	36.00	18.00
%IG	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	20.00	23.33	26.67	26.67	36.67	40.00	50.00	83.33
%ICR	0.00	0.96	1.57	2.79	1.63	2.32	37.68	54.32	61.26	70.45	75.11	79.44	85.85	95.08	99.17

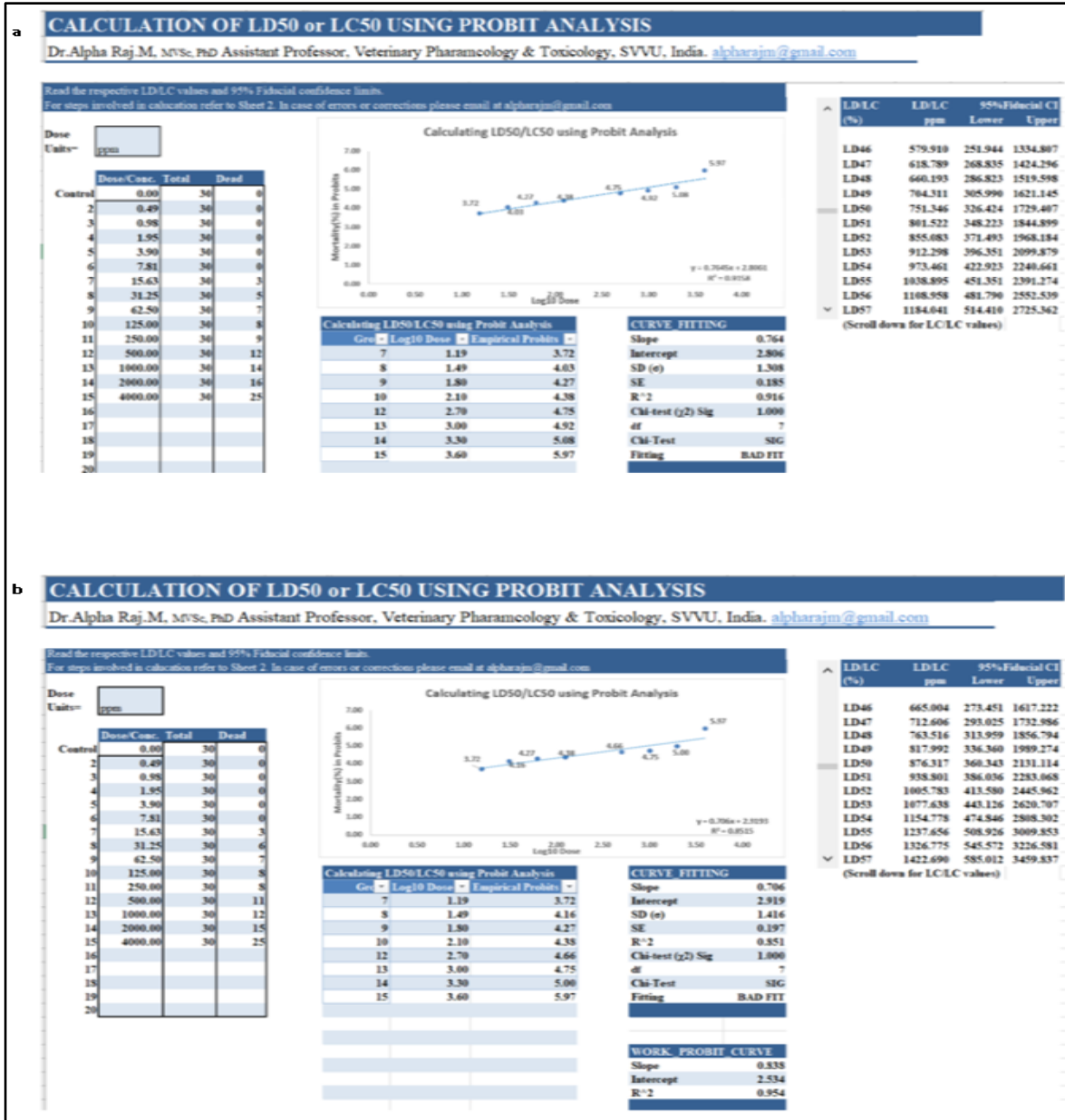
ANEXO 9. Tabla de Datos del Efecto de Metamidafos en la Mortalidad y Diferencia de Peso Húmedo (mg) de *Eisenia foetida*

N°	Concentración de METAMIDAFOS (ppm)														
	0	0.49	0.98	1.95	3.9	7.81	15.63	31.25	62.5	125	250	500	1000	2000	4000
1	400.00	396.00	349.00	321.00	386.00	386.00	396.00	402.00	367.00	387.00	203.00	230.00	159.00	107.00	73.00
2	349.00	385.00	350.00	385.00	387.00	387.00	340.00	400.00	368.00	385.00	276.00	214.00	169.00	114.00	64.00
3	443.00	375.00	410.00	375.00	378.00	378.00	400.00	387.00	362.00	376.00	241.00	210.00	154.00	114.00	63.00
4	410.00	390.00	400.00	390.00	386.00	386.00	387.00	398.00	378.00	376.00	217.00	207.00	197.00	104.00	0.00
5	400.00	380.00	378.00	380.00	376.00	390.00	300.00	389.00	305.00	398.00	246.00	208.00	174.00	100.00	0.00
6	378.00	395.00	400.00	395.00	365.00	380.00	400.00	312.00	300.00	365.00	286.00	208.00	198.00	167.00	0.00
7	400.00	399.00	423.00	399.00	378.00	395.00	350.00	387.00	287.00	398.00	259.00	187.00	167.00	0.00	0.00
8	423.00	376.00	386.00	376.00	386.00	345.00	386.00	386.00	300.00	354.00	247.00	185.00	164.00	0.00	0.00
9	367.00	402.00	368.00	412.00	376.00	376.00	365.00	332.00	300.00	390.00	247.00	197.00	0.00	0.00	0.00
10	368.00	428.00	390.00	407.00	367.00	342.00	375.00	376.00	387.00	396.00	248.00	212.00	0.00	0.00	0.00
11	390.00	398.00	380.00	398.00	368.00	384.00	390.00	398.00	357.00	224.00	201.00	235.00	0.00	0.00	0.00
12	380.00	354.00	375.00	354.00	390.00	334.00	360.00	398.00	347.00	274.00	265.00	197.00	0.00	0.00	0.00
13	402.00	365.00	387.00	365.00	380.00	354.00	389.00	321.00	387.00	274.00	212.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14	400.00	386.00	390.00	386.00	375.00	365.00	386.00	375.00	387.00	298.00	250.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	390.00	387.00	387.00	387.00	400.00	342.00	387.00	305.00	342.00	241.00	210.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	396.00	378.00	400.00	378.00	390.00	315.00	378.00	316.00	315.00	287.00	249.00	0.00	0.00	0.00	0.00
17	385.00	386.00	387.00	386.00	340.00	378.00	386.00	376.00	317.00	376.00	265.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18	375.00	386.00	300.00	350.00	387.00	386.00	376.00	300.00	387.00	297.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
19	390.00	387.00	400.00	410.00	387.00	349.00	345.00	309.00	354.00	287.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20	380.00	378.00	398.00	400.00	367.00	350.00	380.00	374.00	321.00	297.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
21	395.00	386.00	386.00	378.00	388.00	410.00	376.00	329.00	376.00	310.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22	399.00	410.00	398.00	376.00	389.00	375.00	389.00	305.00	312.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23	432.00	400.00	386.00	403.00	386.00	378.00	411.00	300.00	388.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24	476.00	378.00	386.00	367.00	365.00	374.00	389.00	306.00	374.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25	428.00	400.00	387.00	368.00	375.00	387.00	389.00	390.00	365.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
26	398.00	402.00	378.00	390.00	390.00	367.00	387.00	367.00	314.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
27	354.00	367.00	386.00	380.00	386.00	368.00	362.00	368.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	452.00	368.00	387.00	375.00	387.00	386.00	365.00	370.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
29	386.00	390.00	378.00	400.00	378.00	380.00	370.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
30	402.00	380.00	386.00	390.00	386.00	375.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Prom	398.27	387.07	383.87	382.70	379.97	370.73	363.80	332.53	299.90	233.00	137.40	82.67	45.03	17.97	6.67
Max	476	428	423	412	400	410	411	402	388	398	286	235	197	114	73
%MUERTO	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	6.67	13.33	30.00	43.33	60.00	73.33	83.33	90.00
%P.PESO	0.00	2.81	3.62	3.91	4.59	6.91	8.65	16.50	24.70	41.50	65.50	79.24	88.69	95.49	98.33

ANEXO 10. Tabla de Datos del Efecto de Clorotanolil en la Mortalidad y Diferencia de Peso Húmedo (mg) de *Eisenia foetida*

N°	Concentración de CLOROTANOLIL (ppm)														
	0	0.49	0.98	1.95	3.9	7.81	15.625	31.25	62.5	125	250	500	1000	2000	4000
1	403.00	386.00	402.00	389.00	376.00	376.00	387.00	376.00	398.00	396.00	305.00	245.00	74.00	102.00	65.00
2	400.00	411.00	376.00	411.00	402.00	354.00	428.00	300.00	376.00	376.00	276.00	234.00	73.00	111.00	56.00
3	397.00	376.00	398.00	389.00	349.00	349.00	300.00	349.00	389.00	375.00	315.00	238.00	87.00	98.00	62.00
4	420.00	388.00	328.00	389.00	350.00	350.00	376.00	350.00	387.00	349.00	287.00	243.00	95.00	100.00	0.00
5	389.00	398.00	376.00	389.00	376.00	376.00	398.00	329.00	389.00	400.00	298.00	241.00	98.00	102.00	0.00
6	410.00	350.00	432.00	411.00	345.00	376.00	328.00	305.00	325.00	385.00	286.00	238.00	84.00	87.00	0.00
7	397.00	420.00	349.00	389.00	349.00	349.00	398.00	300.00	332.00	327.00	259.00	254.00	87.00	98.00	0.00
8	420.00	400.00	386.00	389.00	350.00	387.00	389.00	386.00	398.00	387.00	317.00	234.00	92.00	86.00	0.00
9	389.00	380.00	380.00	387.00	380.00	376.00	411.00	390.00	365.00	385.00	302.00	247.00	83.00	97.00	0.00
10	410.00	467.00	467.00	362.00	467.00	389.00	389.00	367.00	398.00	376.00	248.00	240.00	87.00	95.00	0.00
11	400.00	467.00	467.00	365.00	467.00	349.00	389.00	368.00	365.00	376.00	298.00	235.00	86.00	87.00	0.00
12	489.00	400.00	437.00	402.00	400.00	350.00	387.00	390.00	332.00	375.00	302.00	236.00	88.00	99.00	0.00
13	400.00	397.00	397.00	389.00	397.00	397.00	362.00	345.00	389.00	349.00	310.00	233.00	79.00	87.00	0.00
14	397.00	420.00	420.00	386.00	420.00	420.00	310.00	400.00	325.00	321.00	298.00	243.00	98.00	0.00	0.00
15	402.00	389.00	389.00	376.00	389.00	389.00	420.00	390.00	328.00	314.00	287.00	218.00	87.00	0.00	0.00
16	400.00	410.00	410.00	398.00	389.00	410.00	389.00	396.00	338.00	354.00	249.00	256.00	0.00	0.00	0.00
17	380.00	400.00	389.00	328.00	411.00	389.00	300.00	376.00	387.00	336.00	296.00	235.00	0.00	0.00	0.00
18	467.00	489.00	411.00	398.00	389.00	411.00	376.00	300.00	387.00	336.00	289.00	231.00	0.00	0.00	0.00
19	467.00	389.00	389.00	417.00	389.00	389.00	398.00	349.00	332.00	316.00	267.00	250.00	0.00	0.00	0.00
20	400.00	411.00	389.00	426.00	387.00	389.00	328.00	350.00	345.00	335.00	300.00	245.00	0.00	0.00	0.00
21	397.00	389.00	387.00	400.00	362.00	387.00	398.00	329.00	321.00	398.00	310.00	246.00	0.00	0.00	0.00
22	402.00	389.00	362.00	397.00	384.00	362.00	389.00	305.00	312.00	365.00	298.00	254.00	0.00	0.00	0.00
23	389.00	387.00	387.00	420.00	420.00	398.00	411.00	300.00	331.00	321.00	289.00	0.00	0.00	0.00	0.00
24	410.00	362.00	420.00	387.00	389.00	420.00	389.00	386.00	345.00	300.00	298.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25	400.00	386.00	389.00	349.00	300.00	389.00	389.00	390.00	310.00	327.00	300.00	0.00	0.00	0.00	0.00
26	398.00	420.00	396.00	350.00	376.00	376.00	387.00	367.00	348.00	312.00	287.00	0.00	0.00	0.00	0.00
27	386.00	389.00	376.00	397.00	398.00	376.00	362.00	368.00	341.00	305.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
28	400.00	401.00	398.00	420.00	378.00	398.00	310.00	390.00	327.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
29	375.00	376.00	328.00	421.00	398.00	328.00	420.00	345.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
30	380.00	398.00	398.00	398.00	367.00	398.00	389.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Prom	405.80	401.50	394.43	390.97	385.13	380.23	376.90	343.20	330.67	316.53	252.37	176.53	43.27	41.63	6.10
Max	489	489	467	426	467	420	428	400	398	400	317	256	98	111	65
%Muertos	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.33	6.66	10.00	23.33	26.66	50.00	56.67	90.00
%Vpeso	0.00	1.06	2.80	3.66	5.09	6.30	7.12	15.43	18.51	22.00	37.81	56.50	89.34	89.74	98.50

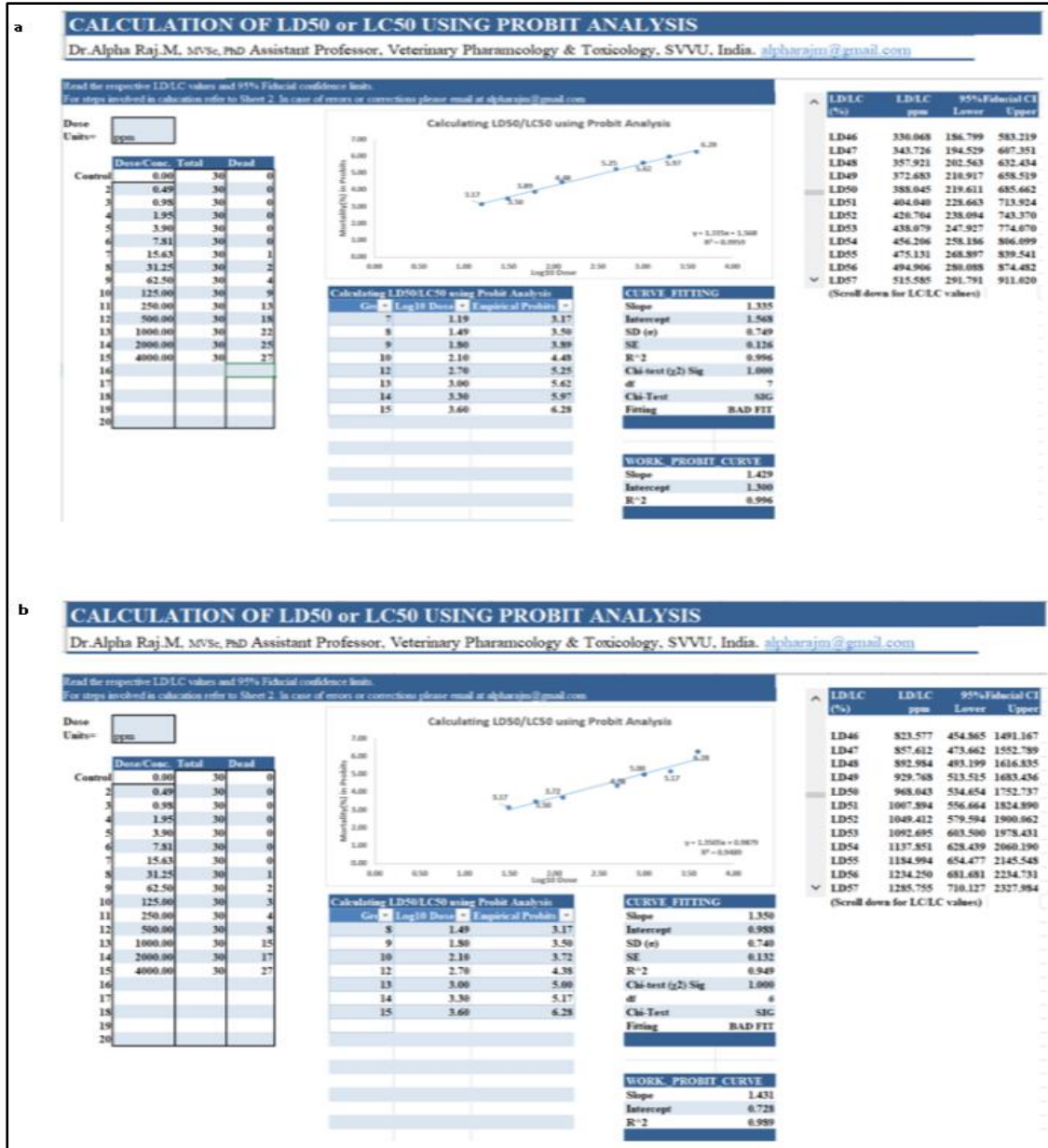
ANEXO 11. Resultados de Analisis Probit y CL50 en *V. faba* por efecto de Metamidafos y Clorotanilil



a) Metamidafos en *V. faba*. b) Clorotanilil en *V. faba*.

Software Probit Analysis <https://probitanalysis.wordpress.com/>

ANEXO 12. Resultados de Analisis Probit y CL50 en *E.foetida* por efecto de Metamidafos y Clorotanolil



a)Metamidafos en *E. foetida*. b) Clorotanil en *E. foetida*.

Software Probit Analysis <https://probitanalysis.wordpress.com/>

ANEXO 13. Parámetros Estadísticos del efecto subletal de Metamidafos y Clorotanolil en *Vicia faba*

EFECTO DE METAMIDAFOS EN <i>Vicia faba</i>							EFECTO DE CLOROTANOLIL EN <i>Vicia faba</i>							
Test for equal means							Test for equal means							
	Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)		Sum of sqrs	df	Mean square	F	p (same)			
Between groups:	4.18055E06	14	298610	192.8	1.902E-176	Between groups:	4.72944E06	14	337817	214.5	3.933E-185			
Within groups:	673680	435	1548.69		Permutation p (n=99999)	Within groups:	685180	435	1575.13		Permutation p (n=99999)			
Total:	4.85423E06	449			1E-05	Total:	5.41462E06	449			1E-05			
Components of variance (only for random effects):							Components of variance (only for random effects):							
Var(group):	9902.06	Var(error):	1548.69	ICC:	0.864752	Var(group):	11208.1	Var(error):	1575.13	ICC:	0.876781			
omega ² :	0.8565						omega ² :	0.8691						
Levene's test for homogeneity of variance, from means				p (same):	7.095E-20		Levene's test for homogeneity of variance, from means				p (same):	9.614E-21		
Levene's test, from medians				p (same):	0.0003639		Levene's test, from medians				p (same):	7.55E-05		
Welch F test in the case of unequal variances: F=706.1, df=164.3, p=8.164E-139							Welch F test in the case of unequal variances: F=1061, df=160.7, p=2.064E-150							
Kruskal-Wallis test for equal medians							Kruskal-Wallis test for equal medians							
H (ch ²):	376.7						H (ch ²):	369.5						
H _c (tie corrected):	380.8						H _c (tie corrected):	373.1						
p (same):	1.387E-72						p (same):	5.707E-71						
There is a significant difference between sample medians							There is a significant difference between sample medians							
DETERMINACION DE LOAEL/NOAEL							DETERMINACION DE LOAEL/NOAEL							
	0.0	0.0	1.95	3.9	7.81	15.63	31.25	62.5	125	250	500	1000	2000	4000
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1.95	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3.9	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
7.81	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
15.63	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
31.25	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
62.5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
500	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

