



**UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍAS**

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA  
(CL<sub>50</sub>) DEL BIPIRIDILO EN POLIQUETOS  
(POLYCHAETA: NEREIDIDAE)**

**TESIS**

Como requisito para la obtención  
del título de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

**PRESENTA**

Chin Yu Lin

**DIRECTOR DE TESIS**

Dr. Víctor Hugo Delgado Blas

Chetumal, Q. Roo, México, Mayo 2013.



**UNIVERSIDAD DE QUINTANA ROO**

---

**DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍAS**

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité de Tesis del programa de Licenciatura y aprobada como requisito para obtener el grado de:

**INGENIERO AMBIENTAL**

**COMITÉ DE TESIS**

**Director:** \_\_\_\_\_

Dr. Victor Hugo Delgado Blas

**Asesor:** \_\_\_\_\_

M.C. José Martín Rivero Rodríguez

**Asesor:** \_\_\_\_\_

Q.F.B. José Luis González Bucio

Chetumal, Q. Roo, México, Mayo 2013.

*“Por Siempre” es difícil de concebirse,  
“El Futuro” podrá parecer muy lejano  
pero cada nuevo amanecer  
nos brinda la oportunidad de dar nuestro mayor  
esfuerzo.*

*Dedicado*  
**A MIS PADRES**

## AGRADECIMIENTOS

Llegados a este punto, sentarse y escribir los agradecimientos es una tarea reconfortante por el simbolismo que encierra, y no menos complicada, por que recordar a todas las personas que de una u otra forma han contribuido a la realización de este trabajo, no es tarea fácil y siempre corremos el riesgo, nunca mejor dicho, de dejarnos a alguien en el teclado.

En primer lugar quiero agradecer a la inmensa misericordia de Dios por haberme mostrado la meta de la vida y por sus bendiciones que me ha impactado de una manera u otra. También quiero agradecer a todas aquellas personas que han colaborado en la realización de este trabajo, con su ilusión y con sus aportaciones profesionales y personales; y también la concesión de una beca de la Secretaría de Relaciones Exteriores (SRE). Esta tesis corresponde a los estudios realizados con una beca otorgada por el Gobierno de México, a través de la Secretaría de Relaciones Exteriores, sin la cual difícilmente podría haberme dedicado en exclusiva a este trabajo.

Agradecer a mi tutor, M.C. Juan Carlos Ávila Reveles, y todos mis profesores, el tiempo y la dedicación prestada durante estos años de mi vida universitaria, sin la cual este trabajo no habría visto la luz.

Gracias al Profesor Dr. Víctor Hugo Delgado Blás, mi director de tesis, por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo y permitirme trabajar en su laboratorio; estos años a su lado han sido una experiencia enriquecedora e inolvidable. Gracias por su confianza depositada en mí, por el entusiasmo transmitido y por sus horas de disposición y entrega.

Al Profesor Q.F.B. José Luis González Bucio por su profesionalidad en este estudio, ofreciendo la máxima disposición para la realización del mismo.

Al Profesor M.C. Víctor Miranda Soberanis por su apoyo profesional y consejos, he logrado terminar una parte importante dentro de mi trabajo de investigación.

Al Profesor M.C. Jaime Alfredo Castillo Rodríguez por su gran ayuda personal y profesional y el préstamo de los equipos del laboratorio, por su esfuerzo en la realización de esta tesis.

También al Profesor M.C. José Martín Rivero Rodríguez por su predisposición ante cualquier duda o problema, por sus charlas durante mis visitas y por su profesionalidad.

Gracias a mi Comité de Tesis al Dr. Víctor Hugo Delgado Blás, al M.C. José Martín Rivero Rodríguez, Q.F.B. José Luis González Bucio, Dr. Adrián Cervantes Martínez y la Dra. Martha Gutiérrez Aguirre por aceptar formar parte de mi Comité y por dedicarle tiempo para la revisión de la tesis. Gracias por sus comentarios y observaciones. También agradezco mucho de que este trabajo fue financiado en la Convocatoria 2013 "Apoyo a la titulación", de la División de Ciencias e Ingeniería para las impresiones de mi trabajo de tesis.

A todos mis compañeros Ivan, Lupita, Diego, Chule, Geo, Karen, Zain, Charlie, Peter, Moi, Pancho, Eloy, Apa, Samy los Cuchis y todos mis amigos, por llevar tantos años formando parte de mi vida apoyándome, enseñándome y aclarando mis dudas siempre y cuando las tuve.

Finalmente, quiero agradecer a las personas que para mí lo son todo, mis padres y mi hermana. Gracias a mis padres, por la inmensidad de su amor, por ser admirables, por sus suaves cuidados, por sus incansables esfuerzos, por su eterna paciencia, por guiarme con sabiduría, por entregarme tantas alegrías, por todo lo que soy y por ser todo lo que tengo y su apoyo incondicional, sin ellos nada hubiera sido posible.

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE	PÁGINA
DEDICATORIA .....	I
AGRADECIMIENTOS .....	II
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
ANTECEDENTES .....	7
ÁREA DE ESTUDIO.....	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
Objetivo general .....	13
Objetivo específicos .....	13
Preguntas de investigación.....	13
Hipótesis.....	13
Justificación .....	14
MARCO TEÓRICO	
Descripción de los poliquetos .....	16
<i>Laeonereis culveri</i> .....	19
El desarrollo histórico del paraquat.....	20
Propiedades fisicoquímicas del paraquat .....	21
Efectos de paraquat en organismos acuáticos .....	22
Pruebas de toxicidad.....	23
Evaluación de la toxicidad acuática .....	24
Riesgo ambiental .....	25

## MATERIALES Y MÉTODOS

Método de Campo .....	31
Laboratorio .....	32
Selección, identificación y aclimatación de los organismos.....	32
Preparación del sedimento.....	33
Preparación de agua salina.....	34
Preparación de la solución madre .....	35
Preparación de las disoluciones de prueba .....	36
Preparación del bioensayo .....	37
Realización de las pruebas de toxicidad .....	38
Cálculo de la concentración letal media .....	38
Estimación del grado de toxicidad .....	38
Estimación del riesgo ecológico .....	39
Cociente de riesgo .....	40
Métodos estadísticos .....	41
Recopilación de base de datos .....	42

## RESULTADOS

Determinación de la concentración letal media .....	43
Determinación del error patrón .....	48
Determinación de las unidades de toxicidad .....	52
Cálculo del riesgo ecológico del plaguicida Gramoxone® .....	53
Resultados del método estadístico.....	53

## DISCUSIÓN .....

59

## CONCLUSIONES .....

62

## RECOMENDACIONES .....

63

## LITERATURA CITADA.....

64

## ANEXOS

Anexo 1. Bioensayos .....	73
Anexo 2. Resultados.....	75
Anexo 3. Plaguicida utilizado en los bioensayos .....	77
Anexo 4. Organismo utilizado en los bioensayos .....	78

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
<b>Figura 1.</b> Localización geográfica de la bahía de Chetumal en Playa Campestre y la ubicación del sitio de muestreo .....	12
<b>Figura 2.</b> <i>Laeonereis culveri</i> .....	19
<b>Figura 3.</b> Distribución mundial de <i>Laeonereis culveri</i> .....	20
<b>Figura 4.</b> Estructura química del Gramoxone® .....	21
<b>Figura 5.</b> Movimiento y destino de los plaguicidas.....	26
<b>Figura 6.</b> Tratamientos con helicóptero y tractor cuba contra <i>Pyricularia oryzae</i> .....	27
<b>Figura 7.</b> Estación Playa Campestre, sitio de recolecta de organismos de <i>Laeonereis culveri</i> .....	31
<b>Figura 8.</b> Método de recolección de <i>Laeonereis culveri</i> en la estación "Playa Campestre" .....	32
<b>Figura 9.</b> Método de identificación de los organismos obtenidos del muestreo.....	33
<b>Figura 10.</b> Método de la preparación del sedimento para los organismos.....	34
<b>Figura 11.</b> Método de la preparación de agua salina.....	34
<b>Figura 12.</b> Método de la preparación de la solución madre.....	35

<b>Figura 13.</b> Método de la preparación de las disoluciones de pruebas.....	36
<b>Figura 14.</b> Organismos utilizados para la realización de los bioensayos. ....	37
<b>Figura 15.</b> Realización de los bioensayos.....	37
<b>Figura 16.</b> Representación gráfica del cálculo de la CL <sub>50</sub> .....	45
<b>Figura 17.</b> Ajuste de la recta por el método de mínimos cuadrados .....	46
<b>Figura 18.</b> Representación gráfica del log de la CL <sub>50</sub> . ....	47
<b>Figura 19.</b> Análisis de las diferencias significativas de la variable de mortalidad .....	55
<b>Figura 20.</b> Promedio de la variable de mortalidad por concentración. ....	55
<b>Figura 21.</b> Promedio de la variable muertos para los grupos de réplicas .....	56
<b>Figura 22.</b> Esquematización de la cámara de bioensayo.....	73
<b>Figura 23.</b> Esquematización de la cámara de bioensayo con el plaguicida Gramoxone® .....	74
<b>Figura 24.</b> Esquematización de las disoluciones de pruebas.....	75
<b>Figura 25.</b> Herbicida del grupo químico Bipiridilo.....	77
<b>Figura 26.</b> <i>Laeonereis culveri</i> .....	78

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
<b>Tabla 1.</b> Estudios sobre la toxicidad de compuestos tóxicos en poliquetos desde 1993 a 2013 .....	8
<b>Tabla 2.</b> Los plaguicidas más utilizados en Belice en 2001.....	15
<b>Tabla 3.</b> Relación de organismos utilizados en bioensayos de toxicidad .....	18
<b>Tabla 4.</b> Principales propiedades físicas y químicas del Paraquat .....	21
<b>Tabla 5.</b> Clasificación de toxicidad basada en Unidades de Toxicidad .....	39
<b>Tabla 6.</b> Valor PEC para Paraquat .....	39
<b>Tabla 7.</b> Clasificación del Riesgo Ambiental según el Cociente de Riesgo.....	41
<b>Tabla 8.</b> Resultados obtenidos durante la realización del bioensayo con <i>Laeonereis culveri</i> con la toxicidad del plaguicida Gramoxone®.....	43
<b>Tabla 9.</b> Datos de toxicidad de <i>Laeonereis culveri</i> para el Método Probit. ....	44
<b>Tabla 10.</b> Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad.....	44
<b>Tabla 11.</b> Determinación del Error Patrón. ....	49
<b>Tabla 12.</b> Factor Ponderado .....	50
<b>Tabla 13.</b> Clasificación toxica del plaguicida Gramoxone® en <i>Laeonereis culveri</i> .....	52

<b>Tabla 14.</b> Riesgo ecológico del plaguicida como cociente de riesgo.....	53
<b>Tabla 15.</b> Estadística descriptiva de la variable de mortandad.....	54
<b>Tabla 16.</b> Análisis de varianza de la variable de mortandad.....	54
<b>Tabla 17.</b> Toxicidad de herbicidas en organismos acuáticos.....	57
<b>Tabla 18.</b> Mortalidad de <i>Laeonereis culveri</i> con el plaguicida Gramoxone® a 48 h .....	76

# DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL<sub>50</sub>) DEL BIPIRIDILO EN POLIQUETOS (POLYCHAETA: NEREIDIDAE)

## RESUMEN

Este presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la toxicidad del Bipiridilo en *Laeonereis culveri* específicamente del plaguicida Gramoxone® y analizar el riesgo que podrá afectar a los poliquetos dentro del ecosistema. En Playa Campestre (ubicada en la Bahía de Chetumal entre las coordenadas 18°29' N y 88°17' O) se recolectaron organismos de *Laeonereis culveri* (Webster, 1879), así como muestras de sedimento para la aclimatación de los organismos durante 48 horas.

Se utilizaron cinco concentraciones con tres replicas cada una y un control. Las concentraciones fueron de 1.5, 3, 6, 12 y 24 mg/l. El análisis del Método Probit fue llevado a cabo con el fin de determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del plaguicida. Se determinó la toxicidad aguda durante 48 horas mediante ese método; la concentración (CL<sub>50</sub>) que eliminó el 50% de los organismos para *Laeonereis culveri* fue de **19.23 mg/l**.

Posteriormente a través de tablas para determinar el riesgo ambiental y el nivel de toxicidad se estimó que la toxicidad fue de 5.2 U.T. que es altamente tóxico y podrá ocasionar daños a los seres humanos y a las áreas agrícolas. El cociente de riesgo (CR) fue superior a 1, lo cual indica que existe una posibilidad de que el plaguicida ocasione daños a los organismos que habitan en el sedimento y también al ecosistema entero.

Al aplicar ANOVA se puede observar que el valor de la probabilidad = 0.0001 < al valor crítico de probabilidad = 0.05, lo cual indica que existen diferencias significativas (p<0.05) en la variable de mortandad de los diferentes niveles de concentraciones utilizadas sobre *Laeonereis culveri*.

**Palabras claves:** Bioensayos, toxicidad, poliquetos, herbicida, contaminación.

## INTRODUCCIÓN

El término "Ecotoxicología" fue definido como la ciencia que estudia los efectos tóxicos de sustancias químicas y agentes físicos sobre los organismos vivos, especialmente sobre poblaciones y comunidades dentro de los ecosistemas definidos. Incluye el estudio de los caminos de transferencia de estos agentes y sus interacciones con el ambiente (Truhaut, 1977; Butler, 1978). También es conocida como una rama de la toxicología que se ocupa del estudio de los efectos tóxicos causados por contaminantes naturales o sintéticos a los componentes de los ecosistemas, animales, vegetales y microorganismos, en un contexto integral (Wijesinghe, 2012).

La investigación dentro del campo de la ecotoxicología comprende la emisión, la distribución, el transporte, la transformación (química y biológica), la acumulación y efecto de los contaminantes sobre organismos, poblaciones y ecosistemas (Truhaut, 1986). Para poder entender bien la base de las funciones ecotoxicológicas primero es necesario saber lo que es un contaminante.

Un contaminante se describe como una propiedad biológica, química, física, o sustancia radiológica que no está normalmente presente en el medio y que, en concentraciones suficientes, puede afectar negativamente a los organismos vivos (Wijesinghe, 2012). Estos contaminantes incluye los metales pesados, compuestos radioactivos, los gases nocivos, agroquímicos, y los productos farmacéuticos que están siendo vertidos en el ambiente en cantidades crecientes, principalmente a través de actividades antropogénicas. Algunos contaminantes son tóxicos en cualquier cantidad, mientras que otros ejercen efectos tóxicos solamente cuando los niveles dañinos se alcanzan. Los estos efectos manifestados también se pueden describir en términos de su magnitud y duración.

Los estudios ecotoxicológicos nos proporcionan información sobre los organismos expuestos a las sustancias tóxicas generando varias situaciones antropogénicas que presentan un alto nivel de mortalidad. Algunos ejemplos son los altos niveles de mortalidad en peces y anfibios que son expuestos a plaguicidas y metales pesados (Elskus 2007; Ranatunge *et al.* 2012). Como es el caso del estudio llevado a cabo por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 1989), donde concluyeron que solo el compuesto químico de carbofuran causa la muerte de aproximadamente 2 millones de aves cada año (Schauber *et al.* 1997).

El plaguicida monocrotofos, un insecticida órganofosforado, que es muy dañino para la salud humana y el ambiente fue responsable de la muerte de al menos 20,000 halcones de Swainson en Argentina (Hooper *et al.* 1999). Otro ejemplo sería la pérdida de las extremidades y deformidades de la columna vertebral en las ranas inducido por plaguicidas (Jayawardena *et al.* 2011). Estos efectos tóxicos ambientales tienen consecuencias peligrosas que emanan de los organismos a través de las poblaciones y comunidades y en última instancia de los ecosistemas.

### **Plaguicidas**

La FAO (en inglés Food and Agriculture Organization: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) define al plaguicida como "cualquier sustancia o mezclas de sustancias usadas para prevenir, destruir o controlar una plaga, incluyendo vectores de enfermedades humanas o de otros animales, especies no deseadas de plantas o animales que causen daños o interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de la madera o alimentos para animales, o sustancias que pueden administrarse a los animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos."

Los plaguicidas han sido diseñados para eliminar una gran variedad de organismos vivos indeseables para el hombre. Esta clase de productos se ha utilizado en todo el mundo para la protección de cultivos, y en la salud pública para el control de enfermedades transmitidas por vectores u hospederos intermediarios. Debido a su alta actividad biológica y en algunos casos de su persistencia en el ambiente, el uso de plaguicidas puede causar efectos adversos a la salud humana y al ambiente (Benerjee, 1999; Maroni *et al.* 1999). También, los plaguicidas han sido empleados tanto para el combate de plagas de los cultivos agrícolas como del ganado, su empleo agrícola data desde finales de la década de 1940, con altas tasas de aplicación. El empleo de plaguicidas, frecuentemente mediante prácticas ambientalmente inadecuadas, constituye una de las formas de contaminación difusa más importantes, que impactan no tan sólo los suelos de las áreas en donde se aplican sino que llegan a través de los ríos hasta las zonas costeras afectando las especies marinas.

Los efectos indeseables de los plaguicidas sobre el ambiente se pueden agrupar en aquellos que ocurren: a corto plazo en el ambiente cercano, a largo plazo en el ambiente cercano y a largo plazo en el ambiente lejano. También existe los efectos sobre el ambiente abiótico (aire, agua y suelo), el ambiente biótico (microorganismos, plantas, aves, mamíferos, peces y otros animales acuáticos) y a las cadenas tróficas.

Los plaguicidas actúan a corto plazo sobre el ambiente cercano al lugar donde se aplican. Esto causa, por un lado, la contaminación inmediata del ambiente abiótico —suelos, aguas superficiales y subterráneas y aire— y por otro, la muerte de diversos organismos sensibles a los que no se desean afectar, como los insectos que son enemigos naturales de las plagas o los que el hombre considera como benéficos. A corto plazo, los plaguicidas causan también la muerte de los organismos susceptibles entre los que constituyen la plaga y afectan momentáneamente el equilibrio fisiológico de todos los organismos expuestos a ellos, incluidos los seres humanos.

Cuando los plaguicidas son persistentes o permanentes y se utilizan con frecuencia, el problema se complica, pues con cada aplicación, además del daño inmediato, se agregan al ambiente, nuevos contaminantes que requerirán años para degradarse. Así, aunque el producto deje de usarse en un lugar determinado, por sus características de persistencia —o las de sus productos de transformación, isómeros o impurezas— contaminan los suelos, los sedimentos y los mantos freáticos, los que permanecerán así hasta que se tomen medidas drásticas, como el dragado integral de un río o el cierre de todos los pozos de una región, lo cual no siempre es costeable o factible, sobre todo para los países en desarrollo.

### **Bioensayos**

Los bioensayos son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología, la cual se ocupa del estudio del efecto y destino de los agentes tóxicos de origen antropogénico a los ecosistemas acuícolas y terrestres (Larrain, 1995). Se pueden definir como los procedimientos de exposición de organismos, en condiciones de laboratorio, a varias concentraciones de un tóxico o a diluciones de un efluente.

Estos ensayos permiten estudiar el efecto que tienen los compuestos sobre diferentes grupos taxonómicos estableciendo una relación de concentración-efecto, imprescindible para realizar las valoraciones de peligros y riesgos de los compuestos químicos. Los efectos se evalúan a través de respuestas letales (mortalidad), a través de estudios de toxicidad aguda (fertilización, crecimiento, comportamiento) (EPA, 1984), o a través de estudios de toxicidad crónica.

Los bioensayos son empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota, valorando estos efectos mediante la exposición de organismos a un determinado tóxico. Además, ayudan a establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, a evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que la reciben y a comparar la sensibilidad de una o más especies a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para un mismo tóxico.

Los bioensayos ecotoxicológicos son complementarios a los resultados de los parámetros físicos y químicos, y los de biomonitoreo ambiental. El parámetro de toxicidad aguda más comúnmente empleado es la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) o concentración de inhibición media. Los bioensayos ecotoxicológicos son utilizados en el monitoreo y control de las perturbaciones del ambiente acuático, además se ha indicado que estos bioensayos se pueden emplear como indicadores para designar puntos clave durante un programa de monitoreo ambiental.

Según la duración del bioensayo, los mismos pueden clasificarse en agudo y crónico. La toxicidad aguda es diseñada para medir los efectos de los tóxicos sobre organismos durante un período corto de su ciclo de vida. Normalmente el efecto es mortalidad, o alguna otra manifestación, como por ejemplo, inmovilidad. Los ensayos de toxicidad aguda muchas veces se realizan en laboratorio bajo condiciones controladas y permiten determinar el efecto de un efluente o una sustancia soluble en agua sobre un organismo, constituyéndose en una herramienta válida como indicador de calidad ambiental, ya que la sensibilidad de los organismos a la toxicidad de una sustancia puede variar considerablemente desde una especie a otra, dependiendo de las diferencias metabólicas y naturaleza de su hábitat.

La toxicidad crónica es el período de exposición al tóxico más prolongado (por convención el ensayo crónico debe cubrir al menos 10% del período de vida del organismo), por lo general se evalúan efectos subletales (crecimiento, reproducción, comportamiento). Estos efectos son observados en situaciones en las que la concentración del tóxico permite la sobrevivencia del organismo, pero se afectan algunas de sus funciones biológicas.

### **Poliquetos**

Algunos organismos utilizados en los bioensayos son los poliquetos. Usualmente son el taxón más abundante en comunidades bénticas y han sido muy utilizados como especies indicadoras de condiciones ambientales. En México se conocen más de 1,300 especies de poliquetos, incluidas en 353 géneros y estos a su vez en 62 familias (Salazar-Vallejo *et al.* 2008). Los poliquetos pueden ser usados como indicadores sensibles de la calidad de agua, especialmente en términos de los efectos de contaminantes en las características del ciclo de vida. También pueden ser utilizados como indicadores generales de la diversidad de la comunidad, pero aquellas especies indicadoras de baja diversidad pueden ser diferentes geográficamente y temporalmente (Dean, 2008).

Los poliquetos exhiben una impresionante diversidad de formas que, aunada a su antigüedad, pues la mayoría de las familias estaba ya presente hace más de 500 millones de años, ha permitido que en la actualidad tenga una enorme cantidad de especies. Éstas son agrupadas en más de 80 familias de poliquetos y la mayoría está presente en las costas mexicanas.

## ANTECEDENTES

A lo largo de los últimos cien años se han realizado varios trabajos destinados a establecer los niveles de contaminación por plaguicidas. Estos trabajos se han desarrollado en diferentes niveles ambientales y en muchos casos se utilizan el método de los bioensayos para evaluar el estado toxicológico y las pruebas ecotoxicológicas del contaminante en el ecosistema.

La toxicidad es una propiedad relativa que refleja el potencial de un producto químico que tenga un efecto perjudicial sobre un organismo vivo. Es una función de la concentración y composición de la sustancia química a la que se expone el organismo y la duración de la exposición. Las pruebas de toxicidad, por lo tanto, se utilizan para evaluar los efectos adversos de una sustancia química en organismos vivos, en condiciones estandarizadas y reproducibles que permitan la comparación con otros productos químicos o especies ensayadas y la comparación de datos similares de diferentes laboratorios.

Ségun los comentarios sobre los procedimientos de los bioensayos por Maciorowski *et al.* (1980, 1981, 1982, 1983) nos indica que existe una necesidad para el desarrollo y normalización de los ensayos de los efectos de los productos químicos en los parámetros ecológicos que son indicativos de interacciones interespecíficas, comunidad dinámica y función del ecosistema. Por lo tanto, es importante saber el comportamiento de los productos utilizados, sea en la agricultura o en cualquier área de aplicación, y conocer el grado de toxicidad que podrá ocasionar un daño reversible o irreversible al ambiente y al ser humano.

Durante el transcurso de estos años, se han realizado numerosos estudios relacionados con bioensayos, utilizando distintas especies para la determinación de la toxicidad de algún producto químico en específico. Por lo que se presenta una síntesis (Tabla 1) de los trabajos de los últimos 20 años que se han publicado desde 1993 al 2013 en la base de datos Scopus de Elsevier sobre estudios toxicológicos con poliquetos en México. En cuanto al efecto que tiene los contaminantes sobre los organismos en cuestión, a mayor cantidad y concentración del contaminante mayor daño y mortalidad a los organismos. Entre estos trabajos el organismo más utilizado fue *Capitella Capitata*.

**Tabla 1.** Estudios sobre la toxicidad de compuestos tóxicos en poliquetos desde 1993 a 2013.

<b>Estudio</b>	<b>Pruebas Aplicadas</b>	<b>Tipo de Contaminación</b>	<b>Referencia</b>
Efectos de teflubenzurón de larvas y juveniles del poliqueto <i>Capitella sp. B</i> de Barcelona, España.	Toxicidad crónica con <i>Capitella sp. B.</i> (Polychaeta)	Insecticida (Teflubenzurón)	Méendez, 2005.
Observaciones preliminares de los efectos de cadmio y cobre sobre juveniles del poliqueto <i>Capitella sp. Y.</i> (Annelida: Polychaeta) del Estero del Yugo, Mazatlán, México.	Concentración Letal Media con <i>Capitella sp. Y.</i> (Polychaeta)	Metales (Cadmio y Cobre)	Méendez N. y Green-Ruíz C., 2005.
Efectos de teflubenzurón sobre el procesamiento de los sedimentos de los miembros del <i>Capitella</i> especie de complejo.	Bioensayo con <i>Capitella sp I</i> y <i>Capitella sp B</i> (Polychaeta).	Insecticida (Teflubenzurón)	Méendez, 2006.
Efectos de Cadmio y Cobre sobre el desarrollo larval y la mortalidad del poliqueto <i>Capitella sp. Y.</i> Del Estero del Yugo, Mazatlan, México.	Concentración Letal Media con <i>Capitella sp. Y.</i> (Polychaeta)	Metales (Cadmio y Cobre)	Méendez N. y Green-Ruíz C., 2006.

Bioacumulación y eliminación de Hg en el gusano de fuego <i>Eurythoe complanata</i> (Annelida: Polychaeta) de Mazatlán, México.	Bioensayos con <i>Eurythoe complanata</i> . (Polychaeta)	Metal Pesado (Mercurio)	Vázquez-Núñez <i>et al.</i> 2007.
Efectos de metamidofos en el procesamiento de los sedimentos y la masa corporal de <i>Capitella sp. Y.</i> de Estero del Yugo, Mazatlán, México.	Toxicidad aguda con <i>Capitella sp. Y.</i> (Polychaeta)	Insecticida (Organofosforados)	Méndez <i>et al.</i> 2008.
Determinación de la Concentración Letal Media (CL <sub>50</sub> ) de cuatro detergentes domésticos biodegradables en <i>Laeonereis culveri</i> (Webster 1879) (Polychaeta: Annelida).	Concentración Letal Media (CL <sub>50</sub> ) con <i>Laeonereis culveri</i> . (Polychaeta)	Detergentes Domésticos Biodegradables	Uc-Peraza y Delgado-Blas, 2012.

## ÁREA DE ESTUDIO

La Bahía de Chetumal es una gran entrada del mar Caribe que está situada en el extremo Sur del Estado de Quintana Roo, al Sureste de la la península de Yucatán en México y es una zona fronteriza que comparten México y Belice. Está situada entre las coordenadas 18° 21" y 18° 52" de latitud Norte y los meridianos 87° 54" y 88° 23" de longitud Oeste y se encuentra a una altitud de 10 metros sobre el nivel del mar.

La Bahía tiene forma semi-elongada con 110 km de largo y 20 km de ancho, con un máximo de 49 km en su parte media y un mínimo de 5 km en la cabeza. La batimetría de la bahía es relativamente somera (4 m en promedio), con un canal central que presenta una profundidad promedio de 6 a 8 m con dirección SO (Carrillo *et al.* 2009). En la bahía de Chetumal desemboca el río Hondo que es una de las pocas corrientes superficiales de la península de Yucatán. En el punto de la desembocadura del río en la bahía se encuentra la ciudad de Chetumal que da nombre a la bahía y es la ciudad más importante de la región y capital del estado de Quintana Roo.

### **Entorno**

Chetumal se encuentra localizada en una zona plana como es característica en toda la Península de Yucatán, dos de sus extremos, el este y el sureste, culminan en la Bahía de Chetumal, cuya costa es baja y pedregosa, cubierta en su mayor parte por el mangle, hacia el suroeste de la zona urbana se encuentra el cauce del río Hondo y su desembocadura, aunque no existe urbanización alguna en esa zona, la mayor parte de la ciudad se extiende hacia el norte y hacia el oeste, su territorio únicamente tiene una diferencia de altura situada a unos 200 metros de la costa, el resto es prácticamente plano, con algunas mínimas ondulaciones, esta zona permite la formación de zonas pantanosas y aguadas durante la época de lluvias.

## **Clima**

La ciudad de Chetumal tiene un clima clasificado como cálido, subhúmedo con lluvias en verano, que es el que se registra en la totalidad continental del estado de Quintana Roo; la temperatura media anual que se registra es de 26.2°C, y la precipitación promedio anual es de 1,275.9 mm de lluvia (Villanueva, 2004). De acuerdo con Köppen, el clima de la zona se clasifica como Aw(x') i' Aw<sub>1</sub>i', clima subhúmedo, muy cálido, (intermedio), con lluvias de verano, isotermal (variación 5°C y 7°C) con régimen de lluvias en verano, con variaciones en las precipitaciones totales anuales en distintos puntos de la superficie del municipio. Los vientos dominantes (regulares) para la bahía de Chetumal varían entre los cuadrantes Este y Sureste (dirección 93°). Los vientos del Este se presentan de junio a octubre y los del Sureste de enero a mayo. La velocidad media de estos vientos es en promedio de 3-3.5 m/seg (10-25 km/h). El paso repetido de grandes masas de aire húmedo provenientes tanto del Mar Caribe como del Océano Pacífico, proporcionan un aporte de humedad considerable que se ve reflejado en una alta precipitación promedio.

## **Hidrología**

De acuerdo con el comportamiento de los viento en la bahía de Chetumal existe una influencia muy importante del viento con las mareas. Se presentan mareas bajas debido al empuje del agua hacia el mar Caribe cuando hay presencia de vientos del norte pero al contrario a esto con vientos del este y sureste se presentan las mareas altas. Este fenómeno influye directamente con la turbidez del agua, ya que con las mareas bajas disminuye el movimiento del agua y permite la sedimentación de los sólidos que provocan la turbidez. Existen muchos trabajos realizados sobre la batimetría de la bahía de Chetumal, pero no existe una batimetría detallada de la bahía (De Jesús-Navarrete *et al.* 2000). De Jesus-Navarrete hizo un estudio y determinó que la bahía de Chetumal es un cuerpo de agua somero, la profundidad varía entre 1 y 5 m, con la menor profundidad hacia los márgenes. Existen tres sitios donde la profundidad es de 5 m uno en el norte, otro al centro y otro casi frente a Chetumal.

## Playa Campestre

La Playa Campestre se localiza en la bahía de Chetumal (Fig. 1) (Uc-Perazay Delgado-Blas, 2012). En este sitio se recolectó a la especie *Laeonereis culveri* (Webster, 1879).



**Figura 1.** Localización geográfica de la bahía de Chetumal en Playa Campestre y la ubicación del sitio de muestreo (Fuente: Google Earth ©2013 INEGI).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### OBJETIVO GENERAL

- Determinar la toxicidad del Bipiridilo en *Laeonereis culveri*.

### OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del plaguicida Gramoxone® en *Laeonereis culveri* a 48 h, mediante el método Probit.
- Estimar el grado de toxicidad del plaguicida Gramoxone®.
- Analizar el riesgo ambiental del plaguicida Gramoxone®.
- Recopilar información sobre la toxicidad de sustancias tóxicas en poliquetos.

### PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuál es la Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>) del Gramoxone® que eliminan el 50% de *Laeonereis culveri*?
2. ¿Cómo afectaría dicho plaguicida a los poliquetos?

### HIPÓTESIS

Debido a que en las hojas de seguridad del Gramoxone® nos proporciona que la CL<sub>50</sub> de *Daphnia magna* fue de 6 mg/l, se estima al aplicar una concentración mayor de 10 mg/l se eliminará el 50% de la población de *Laeonereis culveri*.

## JUSTIFICACIÓN

Los principales productos agrícolas de Belice son la *caña de azúcar* en el distrito de Corozal y Orange Walk, *cítricos* en el Stann Creek y Cayo, y *plátanos* en Stann Creek y Toledo, por lo tanto, los plaguicidas y fertilizantes se utilizan ampliamente y especialmente para estos productos. Las industrias utilizan los herbicidas, una gran cantidad de nematicidas, fungicidas e insecticidas. Muchos agricultores utilizan mayores cantidades de pesticidas de los que se requieren y esto causa daños a la flora y fauna del ecosistema.

El uso de plaguicidas puede provocar efectos muy adversos sobre la flora y fauna. La toxicidad de los plaguicidas ocasiona un riesgo ecológico que sin tomar medidas de mitigación o realizar evaluaciones ambientales seguramente traerá cambios dañinos no solo a la cadena trófica sino también a todo el ecosistema. Las importaciones de los plaguicidas se han mantenido relativamente constantes durante los últimos años.

En 2001, los plaguicidas más utilizados en Belice se muestran en la Tabla 2. Los piretroides constituyen el mayor grupo más usado; estos incluyen insecticidas, acaricidas y aerosoles. Los organofosforados son el siguiente grupo más utilizados, que incluyen sobre todo los insecticidas. Los arsenicales inorgánicos, los bipiridilos (como el paraquat) y los carbamatos (como Temik utilizado en la industria del plátano como un nematicida) también son utilizados comúnmente.

De acuerdo con los informes de los registros de los plaguicidas en Belice, se decidió tomar el plaguicida Gramoxone (Bipiridilo) (Tabla 2) para realizar este trabajo, con el objetivo de evaluar su nivel de toxicidad y verificar su impacto al ambiente, ya que es uno de los plaguicidas más comerciales y usados en Belice basado, con base en las leyes sustantivas, aprobadas por la Comisión de Revisión Legislativa bajo la autoridad de la Ley de Revisión Legislativa, Capítulo 3 de las Leyes sustantivas de Belice, Ley de Control de Plaguicidas del Capítulo 216.

**Tabla 2.** Los plaguicidas más utilizados en Belice en 2001 (Fernandez, 2002).

CHEMICAL FAMILY	QUANTITY (lbs)
Synthetic pyrethroid	499967
Organophosphate	280963
Inorganic Arsenicals	263971
<b>Bipyridylum</b>	<b>244579</b>
Carbamate	231967
Ethylene Bisdithiocarbamate	209412
Phosphoric Acid	171799
Glyphosphate	55912
Substituted Urea	36436
Chlorinated Phenoxy	30852
Triazine	25173
Thiourea	22702
Phenoxy propionate	20326
Triazole	18242
Amide	12100
Oximinoacetate	11870
Dinitroaniline	9302
Phenol	8192
Biological	7177
Benzimidazole	5140

Por ello, se pretende determinar la toxicidad aguda sobre los poliquetos, éstos se consideran modelos importantes para ser empleados en la evaluación de los efectos de la contaminación (Scaps y Borot, 2000). Entre los poliquetos se encuentra, *Laeonereis culveri* (Anexo 4), es una especie muy abundante, de fácil recolecta e identificación en la Bahía de Chetumal. Además son buenos bioindicadores para evaluar la toxicidad de los plaguicidas ya que su movilidad esta limitada, esto significa que enfrenta los cambios de los factores abióticos y bióticos imperantes del medio.

## MARCO TEÓRICO

### Descripción de los Poliquetos

Los poliquetos son gusanos marinos de cuerpo dividido en varios segmentos y de hábitos muy diversos. Viven en tubos, enterrados en el sedimento, entre algas, algunos son comensales o parásitos. El cuerpo de los poliquetos se divide en 3 regiones básicas. La anterior o acrón está formada por el prostomio (prebucal) y peristomio o (circumbucal), a continuación se halla el metastomio o tronco segmentado (soma) y pigidio o cola (Harris *et al.* 2009).

El prostomio es el segmento preoral donde se hallan los ganglios cerebrales y los órganos sensoriales que incluyen ojos, antenas o tentáculos, palpos sensoriales y órganos nucales; en las formas sedentarias tanto el prostomio como los órganos sensoriales pueden reducirse mucho. Peristomio o segmento oral, donde se abre la boca y donde se hallan los órganos de captura de alimentos y órganos sensoriales relacionados con la alimentación.

El metastomio es el resto de segmentos del metasoma que pueden ser semejantes (segmentación homónoma) o formar regiones claramente definidas (segmentación heterónoma); este es el caso de algunos poliquetos sedentarios. Las estructuras más características del metastomio son los parápodos o parapodios. Típicamente, los parápodos tienen dos ramas: una dorsal (notopodio) y otra ventral (neuropodio), ambas con un cirro, y están provistos de quetas, que son unas acículas quitinosas muy características que dan nombre a esta clase de animales. Las quetas están conectadas por una serie de músculos con el mesenterio ventral, que permite su movimiento y así el movimiento del animal. También los neuropodios están provistos de acículas estructuras más firmes que las quetas, utilizadas para protección. El notopodio tiene con frecuencia expansiones filamentosas o laminares que actúan como branquias. En el pigidio se abre el ano y presenta dos o tres cirros anales que, en los sedentarios pueden modificarse para formar estructuras de fijación.

La mayoría de los poliquetos que pululan sobre y bajo el sustrato se trata de especies carnívoras o carroñeras con ojos y órganos sensoriales extremadamente sensibles. Su boca es proyectable y las protuberancias de sus segmentos están desarrolladas para posibilitar el desplazamiento del animal. En aquellas especies nadadoras estos segmentos están modificados para facilitar la natación y su coloración es mayoritariamente transparente.

Los poliquetos excavadores se desplazan bajo el sustrato dejando construidos tras su paso pequeños túneles que no se derrumban debido a la mucosidad con la que impregnan sus paredes. Estos presentan los órganos sensoriales reducidos y en muchos casos su visión es limitada. Su alimentación es mayoritariamente omnívora basada en restos y desechos presentes en el sustrato.

En general, los poliquetos son componentes relevantes de las comunidades marinas bentónicas, por su abundancia y riqueza de especies. Ellos constituyen entre el 35% y 65% de las especies de organismo marinos macroscópicos que habitan los sustratos blandos y un número habitan las costas rocosas (Harris *et al.* 2009). El conocimiento de la poliquetofauna es importante para caracterizar los distintos hábitats bentónicos y también para realizar programas de vigilancia ambiental porque varias de sus especies son sensitivas y pueden ser buenos indicadores de contaminación.

Los poliquetos son buenos bioindicadores debido a sus atributos y características que tienen y se mencionan a continuación:

- Son biológicamente relevantes e importantes para mantener una comunidad equilibrada.
- Tienen una baja variabilidad genética y ecológica.
- Son muy abundantes.
- Están limitados en su movilidad y tienen ciclos de vida cortos.
- Sus condiciones permiten efectuar mediciones continuas.
- Tienen un bajo costo en cuanto a la medición proporcionando una cantidad de información máxima por unidad de esfuerzo.
- En cuando el muestreo no presenta un desequilibrio o destrucción al ecosistema.
- Sus características ecológicas son bien conocidas y por lo tanto se puede definir la variación natural y si sus situaciones son aceptables o no aceptables.
- Son oportunistas y proveen información para iniciar acciones rápidamente.

No existe un organismo único y universal para ser usado en laboratorio a la hora de establecer la toxicidad, cada organismo tiene su utilidad, por ello es esencial entender las limitaciones de las pruebas de toxicidad (Del Valls y Conradi, 2000). Existe una clasificación de los diferentes grupos de organismos empleados en ensayos de toxicidad (Tabla 3).

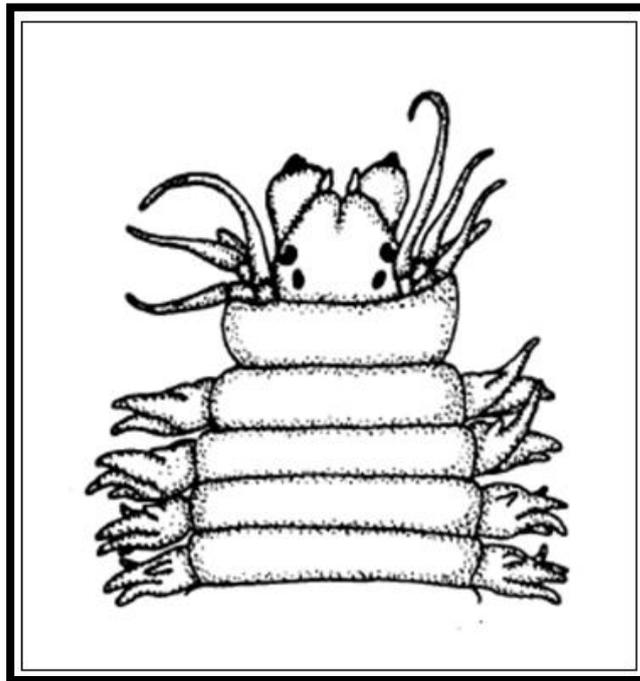
**Tabla 3.** Relación de organismos utilizados en bioensayos de toxicidad (Henry, 1988).

<b>Organismo</b>	<b>Cultivo en Laboratorio</b>	<b>Recolección en Campo</b>	<b>Empleado como organismos en Bioensayos</b>
<b>1. Algas</b>	Excelente	Muy difícil de recolectar el cultivo puro	Si
<b>2. Protozoos</b>	Excelente	Muy difícil de recolectar el cultivo puro	Muy Limitado
<b>3. Invertebrados</b>			
<b>a. Planctónicos</b>			
1. Rotíferos	Bueno	Muy difícil de recolectar el cultivo puro	Limitado
2. Cladóceros	Excelente	Alta tasa de mortalidad tras la recolección	Si
3. Copépodos	Medio	Alta tasa de mortalidad tras la recolección	Limitado
4. Camarones	Bueno	Bueno	Si
<b>b. Bénticos</b>			
1. Anélidos	Medio	Medio	Limitado
2. Insectos	Bajo	Medio	Si
3. Molluscos	Bueno	Medio	Si
4. Crustáceos	Bajo	Medio	Si
<b>4. Peces</b>	Excelente	Alta tasa de mortalidad tras la recolección	Si

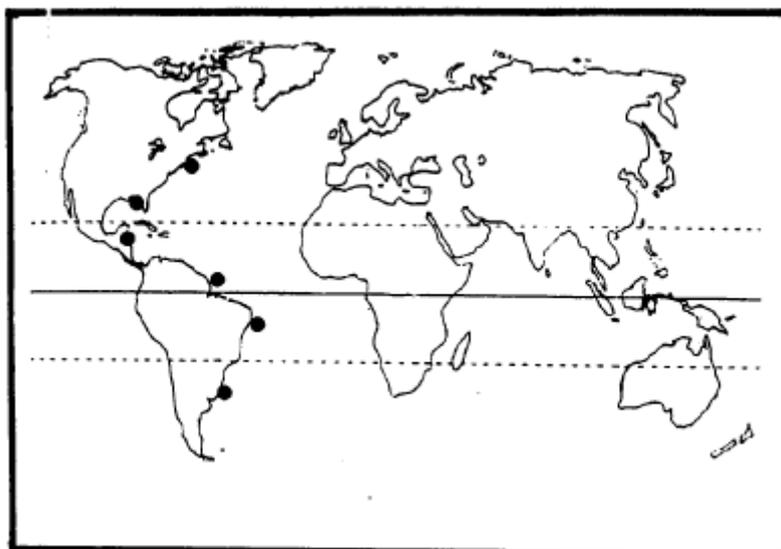
### ***Laeonereis culveri***

El *Laeonereis culveri* tiene un cuerpo pálido, de 35 mm de largo y 2 mm de ancho, con 95 setígeros. Prostomio con una hendidura dorsal, un par de antenas pequeñas; con dos pares de ojos en arreglo rectangular, los anteriores reniformes, los posteriores ovales. Tienen palpos biarticulados, con el palpostílo redondeado, y el peristomio ligeramente más largo, con 4 pares de cirros tentaculares y el par mayor alcanza el setígero 2 (Fig. 2) (De León González, 1999). Habitan dentro del sedimento donde excavan galerías en forma de U de entre 10-20 cm de profundidad, alimentándose de la materia orgánica del sedimento. Viven en la franja entre mareas en ambientes arenosos o fangosos, preferentemente de ambientes salobres (marismas y planicies de marea sin vegetación).

La clasificación de *Laeonereis culveri* de acuerdo al "Catálogo de la Vida 2010: The Intergrated Taxonomic Information System es Reino: Animalia, Filo: Annelida, Clase: Polychaeta, Orden: Aciculata, Familia: Nereididae, Género: *Laeonereis*, Especie: *Laeonereis culveri* y se encuentra en distintos lugares del mundo (Fig. 3).



**Figura 2.** *Laeonereis culveri* (De León González, 1999).



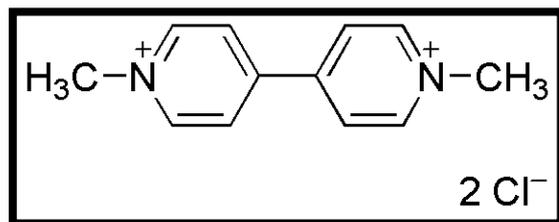
**Figura 3.** Distribución mundial de *Laeonereis culveri* (De León González, 1999).

### **El Desarrollo Histórico del Paraquat**

El Paraquat fue producido por primera vez en 1961 para propósitos comerciales por el Instituto de Cooperación Iberoamericana (ICI), y actualmente por Syngenta. Hoy en día entre los herbicidas el paraquat es el más comúnmente usado. En 1969 este plaguicida fue introducido a México y América latina por un grupo de empresas de una corporación Transquímica de México y Petroquímica de Bajo ambas subsidiarias del grupo corporativo Celamex.

El Paraquat es el nombre comercial del **Dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo**, un viológeno; además es el ingrediente activo de Gramoxone (Anexo 3) que es peligrosamente venenoso para los humanos si es ingerido. Su fórmula empírica viene siendo  $C_{12}H_{14}N_2Cl_2$  con su No. de registro del CAS: 1910-42-5 (WHO, 1993). El Paraquat es hidrosoluble, corrosivo, incoloro e inodoro; a los formulados se agregan sustancias nauseabundas y colorantes para distinguirlos de otros productos.

Algunos nombres comerciales son: Gramoxone®, Weedol®, Dextrone®, Gramuron®, Herboxone®, Pillarxone®, Dicloruro de Paraquat® y Cloruro de Paraquat®. La estructura química del Gramoxone® se puede observar en la Figura 4.



**Figura 4.** Estructura Química del Gramoxone® (OSHA).

El ingrediente activo de Paraquat pertenece al compuesto de los Bipiridilos. Los Bipiridilos son compuestos de amonio cuaternario, muy peligroso y tóxico. Si se ingieren por vía oral, producen fibrosis pulmonar irreversible. También dañan el pulmón si son absorbidos por la piel. Además son herbicidas de contacto que dañan rápidamente los tejidos de las plantas, causando en ellas una apariencia como de daño por helada debido a la destrucción de las membranas celulares. Estos rápidos procesos de marchitamiento y desecación ocurren en cosa de horas, por lo cual también se usan como desecantes foliares antes de la cosecha de cultivos para semilla, algodón, soya, caña de azúcar y girasoles. (Ware y Whitacre, 2004).

#### **Propiedades Físicoquímicas del Paraquat**

A continuación (Tabla 4) se presentan las principales propiedades físicas y químicas del Paraquat.

**Tabla 4.** Principales propiedades físicas y químicas del Paraquat (WHO, 1993).

<b>Propiedades</b>	<b>Descripción</b>
<b>Estado Físico</b>	Polvo Cristalino
<b>Color</b>	Amarillo
<b>Olor</b>	Inoloro
<b>Peso Molecular</b>	186.2
<b>Gravedad Específica (20 °C)</b>	1.240-1.260
<b>Punto de Fusión (°C)</b>	175-180
<b>Punto de Ebullición (°C)</b>	300
<b>Solubilidad en agua (20 °C)</b>	700 g/litro
<b>pH de la formulación líquida</b>	6.5-7.5
<b>Presión del vapor</b>	No medible

El paraquat no es explosivo ni inflamable en las formulaciones acuosas. Es corrosivo para los metales e incompatible con los agentes humectantes del alquilarilsulfonato. Es estable en soluciones ácidas o neutras, pero las alcalinas lo hidrolizan fácilmente. Las sales de paraquat puro son blancas y los productos técnicos, amarillos, y son polvos cristalinos, incoloros e higroscópicos. Además es ligeramente soluble en alcohol y prácticamente insoluble en disolventes orgánicos.

### **Efectos de Paraquat en organismos acuáticos**

La inclusión de compuestos xenobióticos en los sistemas acuáticos es una consecuencia no sólo de la aspersión directa sobre cuerpos de agua, sino también productos de la lixiviación y escorrentía, bien sea en sistemas agrícolas como en producciones pecuarias. La exposición a herbicidas a niveles por debajo de las concentraciones ambientales esperadas se ha demostrado que compromete la supervivencia, reproducción y desarrollo del zooplancton, así como de algunos anfibios; dicho efecto está relacionado con un bajo nivel de pH en el agua (Chen *et al.* 2008).

Elandalousi *et al.* (2008) evidenciaron que la exposición en almejas *Ruditapes decussatus* a glifosato (grado técnico) y Roundup® (producto comercial a base de glifosato), redujo la supervivencia frente a un desafío con el protozooario *Perkinsus olseni*. Los efectos fueron mayores en la exposición al Roundup® ante lo cual los autores argumentaron un efecto más tóxico debido al surfactante. Alberdi *et al.* (1996) encontraron que el Paraquat fue muy tóxico para dos especies de cladóceros: *Daphnia spinulata* fue menos tolerante que *Daphnia magna*. El CL<sub>50</sub> (48 h) fue de 2.57 mg/L para *D. spinulata* y 4.55 mg/L para *D. magna*. Estos valores son muy cercanos a los rangos utilizados en ambientes acuáticos (0.1 a 2 mg/L), mostrando que la exposición crónica puede ser muy perjudicial para las poblaciones naturales de la especie nativa *D. spinulata* y que la misma podría ser un muy buen indicador en bioensayos toxicológicos.

El Paraquat puede ser muy tóxico para la fauna acuática, incluso se ha determinado que el grado de toxicidad es mayor al del glifosato para cladóceros y para *Scenedesmus quadricauda* (Alberdi *et al.* 1996). Recientemente se está investigando su incorporación a las tramas tróficas acuáticas y acuático-terrestres. El Paraquat también es tóxico para eslabones superiores al analizado en el presente trabajo. La toxicidad oral aguda (LD<sub>50</sub> mg/kg) para el pato silvestre, es de 199

mientras que para la rata blanca *Rattus ratus* es de 150 (Nimmo y Mcewen, 1998). Vismara *et al.* (2000) estudiaron el porcentaje de mortalidad y de malformaciones larvarias del anfibio *Xenopus laevis* Daudin, 1803, encontrando que el Paraquat tuvo efectos letales para los embriones. Aunque no se encontraron indicios de actividad teratogénica, sí fueron comunes malformaciones específicas a nivel de los miocitos que, al ser analizadas histológicamente, confirmaron que el mecanismo de toxicidad del Paraquat se ejerce a nivel molecular sobre los microfilamentos celulares. Edwards *et al.* (2000) postulan que la principal causa de declinación de las poblaciones de liebre europea es el hábito de las mismas de forrajear en los cultivos tratados con Paraquat.

### **Pruebas de Toxicidad**

Para poder determinar la toxicidad de alguna sustancia en el ambiente acuático se han utilizado bioensayos de laboratorio. Estas pruebas de ecotoxicidad llevadas a cabo en el laboratorio se consideran relativamente precisas y fiables para obtener el porcentaje de mortalidad de organismos de una especie determinada (por ejemplo, 50%) que están expuestos a un contaminante tóxico.

Durante la ejecución de las pruebas se permite controlar diferentes parámetros tales como: oxígeno disuelto, temperatura, salinidad y pH. Por lo tanto, es una herramienta útil para monitorear la calidad del agua y dar alerta temprana sobre la descarga de contaminantes potencialmente dañinos.

Existen dos tipos de pruebas de ecotoxicidad; la toxicidad aguda y la crónica. Pero el parámetro toxicológico más usado empleado para evaluar el impacto ambiental de una sustancia es la toxicidad aguda, ésta tiene la ventaja de ser relativamente sencilla, es económica y dura un corto tiempo de 24 a 48 h en invertebrados o a 96 h en peces. En cambio, los ensayos de toxicidad crónica o sub-letales son mucho más complejos y requieren mucho más tiempo para su realización y por esta razón no se llevan a cabo con frecuencia. Los resultados se expresan en valores de concentración letal media (CL<sub>50</sub>) que es la concentración tóxica que causa la muerte al 50% de organismos de prueba.

La utilización de ensayos de toxicidad permite establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y comparar la sensibilidad de una o más especies frente a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para el mismo

tóxico. Es útil para la investigación básica de la toxicidad, establecer criterios o patrones de calidad de las aguas superficiales o de los efluentes, la evaluación del impacto ambiental y del riesgo ecológico, y el monitoreo de las condiciones acuáticas.

### **Evaluación de la toxicidad acuática**

La toxicología acuática tiene entre sus objetivos principales evaluar el efecto de los tóxicos en el ecosistema. Desde los años 60 las pruebas de toxicidad acuática se han llevado a cabo cada vez con más frecuencia. En México, la ecotoxicología es un área de conocimiento de desarrollo relativamente reciente que presenta un rezago considerable, careciéndose de una normatividad en la eliminación de descargas basadas en criterios biológicos, en comparación con países desarrollados como Estados Unidos y la Unión Europea que cuentan con información documentada para su legislación.

Los estudios ecotoxicológicos que se han llevado a cabo con diferentes especies acuáticas constituyen la única forma de determinar el grado de toxicidad de efluentes y compuestos químicos aislados, ya que las pruebas físicas y químicas no resultan suficientes para la valoración de los efectos potenciales sobre la vida acuática y terrestre, así que la aplicación de métodos biológicos apropiados garantiza la conservación de los ecosistemas, como también nos permite incorporarlos como criterios en el establecimiento de normas ambientales.

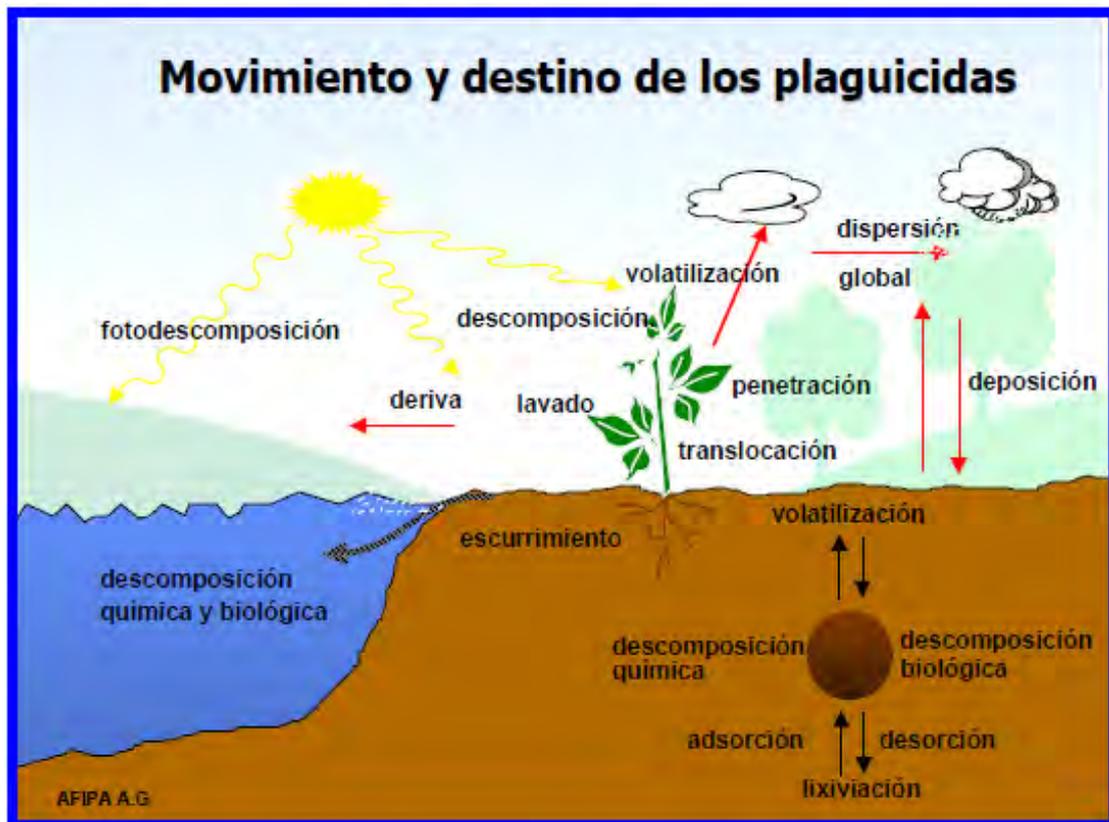
Con el fin de evaluar la toxicidad acuática se incrementa la disponibilidad de los métodos estandarizados (APHA - American Public Health Association, American Public Works Association, Water Pollution Control Federation; ASTM - American Society for Testing and Materials; USEPA – United States Environmental Protection Agency; USEPA TSCA – United States Environmental Protection Agency Toxic Substances Control Act; USEPA FIFRA – United States Environmental Protection Agency Federal Insecticide, Fungicide, Rodenticide Act y OCED – Organization for Economic Co-operation and Development) donde se dispone una gama de organismos de prueba para determinar la calidad de las aguas y la toxicidad de sustancias xenobióticas. Esto debido a la enorme cantidad de compuestos sintetizados principalmente en las últimas décadas, que constituye una serie amenaza potencial para todos los seres vivos por el desconocimiento que se tiene acerca de sus características tóxicas.

## Riesgo Ambiental

La evaluación del riesgo establece la probabilidad de que se produzcan efectos adversos sobre el hombre, los animales, las plantas o el ambiente como resultado de la exposición a uno o más agentes estresantes (EPA, 1984). La valoración de riesgo de una sustancia potencialmente nociva está en función de varios factores: la exposición a la sustancia, los efectos resultantes de esta exposición y los organismos expuestos a la sustancia contaminante. De esta forma, la valoración del riesgo ambiental se puede definir como “la valoración cuantitativa de la probabilidad de que se verifique un cierto efecto ambiental como resultado de la exposición a una sustancia contaminante” (Vighi y Bacci, 1998). La evaluación del riesgo, por lo tanto, se basa en la integración de dos elementos: la caracterización de la exposición y la caracterización de los efectos que derivan de esa exposición. La caracterización de la exposición se entiende como el contacto o concurrencia entre los factores estresantes y el componente ambiental receptor o entidad ecológica (Encina y Diaz, 2001; Moraes, 2002).

La contaminación de los ecosistemas acuáticos por plaguicidas puede ser directa, por la aplicación directa a las aguas de alguicidas o de otros plaguicidas usados en agricultura, salud pública o indirecta, por la movilidad de los compuestos aplicados desde el aire o directamente a los suelos. Esta contaminación puede alcanzar en ocasiones un elevado riesgo para la flora y la fauna de los ecosistemas acuáticos, produciendo la desaparición de especies y, como consecuencia, la pérdida de equilibrio en las cadenas tróficas. Además, puede provocar la reducción de la calidad del agua, como recurso utilizable, y la contaminación de los acuíferos, o de otros compartimentos ambientales, como el suelo (Barberá, 1989).

El movimiento de los plaguicidas esta relacionados con varios procesos tales como la fotodescomposición, la volatilización, la adsorción, la desorción, la lixiviación, la descomposición biológica y química y otros factores que influyen en el escurrimiento y el destino de los plaguicidas (Fig 5.)



**Figura 5.** Movimiento y destino de los plaguicidas (Muñoz, 2004).

Los plaguicidas pueden ser emitidos como la técnica del tratamiento de los *Pyricularia oryzae* en el trabajo de la Evaluación de Riesgos Ambientales del uso de Plaguicidas Empleados en el Cultivo del Arroz en el Parque Natural de La Albufera de Valencia (Fig. 6) (Sánchez, 2008), por lo tanto, de esta manera se puede ocasionar daños al ecosistema, los cuerpos acuáticos, el manto freático y la contaminación atmosférica.



**Figura 6.** Tratamientos con helicóptero y tractor cuba contra *Pyricularia oryzae* (Sánchez, 2008).

Los factores abióticos y bióticos han afectado la evolución de los plaguicidas en los ambientes acuáticos. Por lo tanto, el uso inadecuado de estas sustancias puede ocasionar un grave riesgo y efectos negativos. La presencia de residuos de los plaguicidas en el medio ambiente es un buen ejemplo de este efecto (Cebrián *et al.* 1988). Algunos plaguicidas son muy diversos; mientras unos se degradan con rapidez, otros son muy persistentes y, para su desaparición, precisan de amplios periodos de tiempo.

Muchos de los casos estudiados nos muestran que el suelo y las aguas subterráneas se convierten en reservas ambientales de estos residuos, desde los cuales se pueden desplazar, a través de una gran variedad de rutas, a la atmósfera, aguas y organismos vivos, que involucra los procesos de acumulación, degradación y disipación (Goodman *et al.* 1992). Estos ambientes acuáticos que se convirtieron en reservas o sumideros de los plaguicidas afectan a algunas características de los ecosistemas como la estructura (diversidad) y función (transferencia de energía y nutrientes) y resulta en un ecosistema inestable. Los factores básicos como la concentración de los plaguicidas, el tiempo de exposición, las características ambientales del ecosistema y la presencia de otros tóxicos determinan que tan contaminados están los ecosistemas acuáticos. Los efectos producidos sobre la biota variarán según el tipo de especie de lo que se trate (Rand, 1995).

Los plaguicidas afectan a la base de la cadena trófica dentro de un sistema acuático (Ware y Roan, 1970), es decir, pueden inhibir los procesos fotosintéticos del fitoplancton y otras plantas acuáticas; esto afectará al balance natural de los componentes de los ecosistemas acuáticos (Lal, 1982) y a la vez conduce un desequilibrio de otras unidades que están en interacción (Mulla y Mian, 1981).

La toxicidad es el área principal cuando se evalúa los riesgos de los plaguicidas. Los efectos ecológicos causados por las sustancias tóxicas dependen de su actividad biológica y de su estabilidad, que cambian en las diferentes condiciones ambientales. Por lo tanto, es importante estudiar el comportamiento de los plaguicidas seleccionados en el medio ambiente, cómo se comportan bajo determinadas condiciones abióticas y además los microorganismos presentes en el medio ambiente frente a estas sustancias ayudará a realizar la Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA).

Para evaluar el riesgo ambiental se debe analizar el transporte y la transformación de los contaminantes liberados al ambiente. Esto se obtiene mediante numerosos análisis sistemáticos de las concentraciones ambientales. El modelo de fugacidad ha sido aplicado en varias situaciones relativas a contaminación por plaguicidas y también para evaluar el riesgo de contaminación del ambiente acuático. Ellos permiten estimar la concentración ambiental, lo que da un índice de la evaluación de la exposición a una sustancia al contrastar este valor con otro que dé una indicación de los efectos como, por ejemplo, el nivel de efecto no observado (NOEL) o cualquier índice toxicológico expresado como la concentración letal media (CL<sub>50</sub>).

Se obtendrá una visión de los probables efectos que se producirían en un ambiente determinado (Encina y Díaz, 2001). La estimación de los efectos se puede realizar por observaciones de campo o mediante ensayos ecotoxicológicos, los cuales permiten establecer una relación causal entre las concentraciones ambientales y los efectos sobre las poblaciones. Se han desarrollado procedimientos estándares y protocolos para la realización de bioensayos de toxicidad con distintas especies de organismos a diferentes niveles de la organización biológica. Los bioensayos de toxicidad son pruebas en las que se utiliza un tejido vivo, organismo o grupo de organismos para determinar la potencia de cualquier sustancia fisiológicamente activa o de actividad desconocida, permitiendo comparar la toxicidad de diferentes compuestos y conocer la sensibilidad de las diversas especies (Reish y Oshida, 1987).

Para todos los contaminantes que se pueden dar en un determinado ecosistema, algunos autores han clasificado el riesgo asociado al uso de plaguicidas en función de los diferentes ecosistemas (Finizio *et al.* 2001). Sin embargo aunque el cálculo de la ERA (Evaluación del Riesgo Ambiental) es relativamente fácil, el problema principal en la caracterización del riesgo es interpretar el verdadero significado del PEC/PNEC (Predicted Environmental Concentration/Predicted Non Effect Concentration) en términos de daño a un ecosistema (Villa *et al.* 2003).

Normalmente, la evaluación del riesgo en ecosistemas se realiza mediante el cálculo de la relación PEC/PNEC, que recibe el nombre de “Cociente de Riesgo” y se usa como indicador del grado de riesgo, para el ambiente, derivado del uso de los compuestos sometidos a estudio. Como ya se ha comentado anteriormente, las PEC establecen el nivel de exposición del contaminante al que se ve expuesta la población, mientras la PNEC es la concentración de tóxico a la que no es previsible que ocurran efectos adversos para la población. La relación PEC/PNEC, juzga si un compuesto es compatible ambientalmente, en función de que PNEC sea mayor o menor que la PEC. La EPA ha propuesto la inclusión de un “Factor de Evaluación” (AF, Assessment Factor), en la PNEC, que debe ser considerado como un “factor de seguridad” (Comber *et al.* 2003).

La evaluación de la exposición consiste en predecir la concentración de la sustancia que se encontrará, con gran probabilidad, en el medio. Esta concentración se conoce como PEC, es decir la concentración ambiental prevista. Únicamente es necesario determinar el PEC en aquellos compartimientos ambientales en los que se sabe que existen emisiones, vertidos, o donde es razonable preverlos.

El objetivo es predecir la concentración de la sustancia, por debajo de la cual no deben esperarse efectos adversos, en el compartimiento ambiental que se trate. Esta concentración se conoce como PNEC es decir, la concentración prevista sin efecto. El PNEC corresponde normalmente al valor de  $EC_{50}$  (Concentración Efectiva Media), LOEC (la menor concentración con efectos observables, estadísticamente significativos), NOEC (Concentración sin Efecto Observado), etc., derivados de los resultados de los ensayos de toxicidad.

A este parámetro se le aplicará el citado anteriormente “Factor de Evaluación”, o seguridad. Aplicado, además, en el cociente PEC/PNEC, un “Factor de Evaluación” de 100 al PNEC (Palma *et al.* 2004), este factor de evaluación es una expresión del grado de incertidumbre en la extrapolación de los datos de un ensayo, sobre un número limitado de especies, al ambiente real. De esta forma, cuanto más amplios sean los datos de un ensayo, menor será el grado de incertidumbre y la magnitud del factor de evaluación.

En términos generales, cualquier existencia de los plaguicidas deben de aplicar los criterios legales correspondientes, siendo necesario contar con planes de manejo que garanticen el manejo ambientalmente adecuado. Se deberá involucrar a los productores, importadores, exportadores y comercializadores de plaguicidas tal y como lo marca la LGPGIR (Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos) en su artículo 28 fracción I. Para la gestión ambientalmente adecuada de las existencias de los plaguicidas se debe de partir de las restricciones que marca, por un lado el artículo 67 fracción II y el artículo 105 de este reglamento (LGPGIR).

En Belice el Control de Plaguicidas se rige por la Ley de Control de Plaguicidas, el capítulo 181B de las Leyes de Belice, y su respectivo reglamento. La Junta de Control de Plaguicidas (Pesticides Control Board) es el organismo oficial encargado de la aplicación de las disposiciones de la Ley de Control de Plaguicidas. La junta se encarga de la gestión, manejo y el registro del uso de todos los aspectos de los plaguicidas en Belice.

Además en la NOM-045-SSA1-1993 y la NOM-232-SSA1-2009 (Norma Oficial Mexicana) también se establecen las indicaciones, características o requisitos que deben aparecer en las etiquetas de los plaguicidas para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico. La presente norma es de observancia obligatoria para las personas físicas y morales que se dediquen al proceso de los plaguicidas. Por lo tanto, para cualquier tipo de plaguicidas es necesario conocer las leyes y reglamentos para efectuar un manejo adecuado de cada sustancia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Método de Campo

De acuerdo al trabajo de Uc-Peraza y Delgado-Blas (2012), se estableció el sitio de recolecta de *Laeonereis culveri* debido a que en ese sitio se encontró una gran abundancia de esta especie (Fig. 7), así como también se tomaron muestras de sedimento y agua para la aclimatación de los organismos para los bioensayos. El agua fue transportada en un garrafón de plástico con una capacidad de 20 litros.



**Figura 7.** Estación Playa Campestre, sitio de recolecta de organismos de *Laeonereis culveri*

Los organismos de *Laeonereis culveri* fueron recolectados a diferentes distancias de la línea de costa; para esta colecta de organismos vivos se utilizó un nucleador de PVC de 11 cm de diámetro y 25 cm de largo y posteriormente la muestra de sedimentos se tamizó con dos aberturas de malla, uno grueso de 1 mm y el otro fino de 0.5 mm. Para poder manipular fácilmente y evitar la fragmentación de los organismos se utilizaron pipetas de plástico de 3 ml de capacidad de succión y cada organismo se colocó en un vial con agua del sitio de muestreo, con la finalidad de que no se enrollen los organismos y evitar estresarlos (Fig. 8). Seguidamente, los organismos se colocaron en una nevera para su transporte al laboratorio. Los sedimentos se recolectaron con el nucleador y se transportaron en bolsas de plástico. Los bioensayos se mantuvieron a la misma salinidad del sitio de colecta. Todos aquellos organismos que no pertenecieron a la familia Nereididae y el resto del material biológico resultante fueron regresados a su medio.



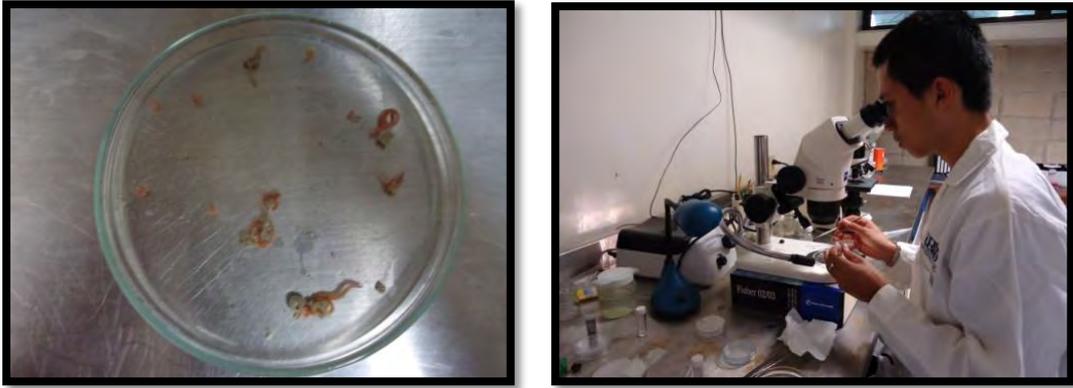
**Figura 8.** Método de recolección de *Laeonereis culveri* en la estación "Playa Campestre".

## **Laboratorio**

### **Selección, Identificación y Aclimatación de los organismos**

En el laboratorio se procedió con la clasificación de los organismos pertenecientes a Nereididae del resto del material biológico. Se seleccionaron los organismos adultos de *Laeonereis culveri* con un tamaño de 20 mm aproximadamente y que no estuvieran dañados, fragmentados, o que no tuvieran una coloración pálida o con poco movimiento.

Mediante un estereoscopio y un microscopio óptico se identificó a la especie de estudio de acuerdo con las claves de González-Escalante y Salazar Vallejo (2003) (Fig. 9). Posteriormente los organismos se colocaron en cristalizadores que tenían 200 ml de agua, aireados y con los sedimentos, conservándolos a temperatura de laboratorio, ciclo de luz y oscuridad natural en donde se aclimatizaron por 2 días previos a los bioensayos. Los nereididos tienen la capacidad de consumir detritos presentes en el sedimento; por lo tanto, en el período del tratamiento y prueba no se les proporcionó alimento a los organismos. Después de colocar cada bioensayo con los organismos correspondientes se esperó un periodo de 48 horas para la aclimatación de los organismos (Uc-Peraza y Delgado-Blas, 2012).



**Figura 9.** Método de identificación de los organismos obtenidos del muestreo.

### **Preparación del sedimento**

El sedimento obtenido de la muestra fue tamizado con una abertura de malla de 0.5 mm para extraer todos los posibles organismos que pudieran haber quedado en la muestra eliminando así algún otro organismo no deseado en este estudio y evitando las posibles reacciones con las bacterias. Después de la tamizada, se esperó 30 minutos para la precipitación del sedimento. Posteriormente, el agua excedente del recipiente fue extraída mediante un sifón y después el sedimento fue obtenido (Fig. 10).

Por último, el sedimento húmedo fue colocado en cinco recipientes con sus tres réplicas, cada cristalizador contenía sedimento que es suficiente para sostener la vida y metabolismo de los organismos. Los cristalizadores fueron utilizados para llevar a cabo este bioensayo, además se utilizó un cristalizador para el manejo de control de los poliquetos. La capacidad de los cristalizadores fue de 100 x 50 mm y de 125 x 65 mm (Fig. 15). El sedimento y el agua de ambos tipos de cristalizadores fueron de la misma cantidad y concentración.

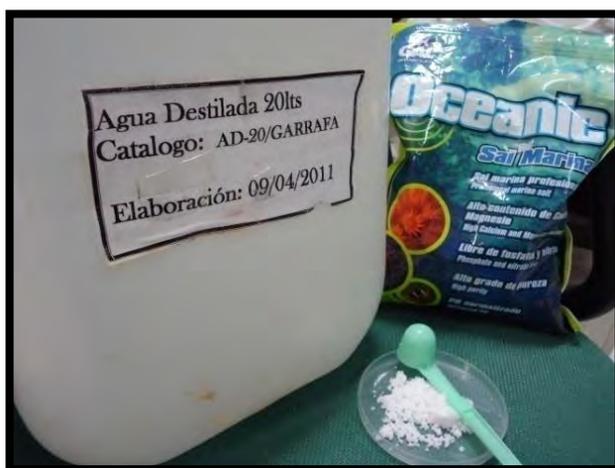


**Figura 10.** Método de la preparación del sedimento para los organismos.

#### **Preparación de agua salina.**

Para la preparación del agua de los cristalizadores de los bioensayos se utilizó agua destilada junto con la sal marina "Oceanic" cuyo objetivo es utilizar agua libre de cualquier sustancia tóxica presente en el agua de la bahía (Fig. 11).

La salinidad utilizada en los bioensayos fue de 8 ‰ (8ppm), misma salinidad que la del sitio de muestreo en Playa Campestre.



**Figura 11.** Método de la preparación de agua salina.

## Preparación de la solución madre

Para el plaguicida se preparó una solución madre al 0.05% (0.5 ml) del producto en 1 L de agua destilada (Fig. 12). A partir de esta solución se prepararon las diferentes concentraciones nominales para los bioensayos (Anexos Fig. 24). En la determinación de las concentraciones a utilizar, se realizó una prueba exploratoria donde la concentración más alta se multiplicó por un factor constante (0.5) para facilitar la toma de la solución del plaguicida con el fin de obtener las concentraciones uniformemente espaciadas dentro de una escala logarítmica. Para el Gramoxone® las concentraciones fueron: 1.5, 3, 6, 12 y 24 ppm (mg/l).

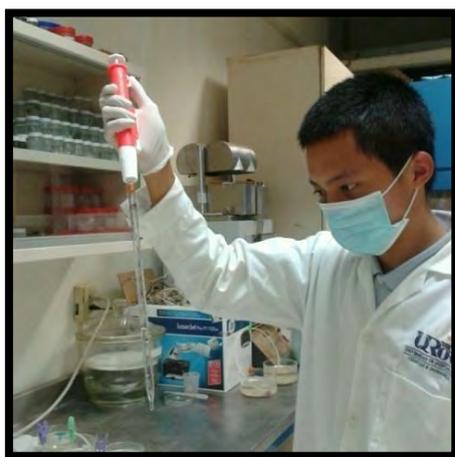


**Figura 12.** Método de la preparación de la solución madre.

## Preparación de las disoluciones de prueba

Para la obtención de las concentraciones a las que los organismos de prueba fueron expuestos en cada bioensayo, se calcularon las cantidades exactas a utilizar de la solución madre. Para el Gramoxone® las cantidades exactas fueron: las tres réplicas del bioensayo 1 se agregó 0.8 ml de Gramoxone® en cada una, y se obtuvo la primera concentración (1.5 ppm); las tres réplicas del bioensayo 2 se agregó 1.6 ml de Gramoxone® para obtener la segunda concentración deseada (3 ppm); las tres réplicas del bioensayo 3 se agregó 3.3 ml de Gramoxone® para obtener la tercera concentración (6 ppm); las tres réplicas del bioensayo 4 se agregó 6.6 ml de Gramoxone® para obtener la cuarta concentración (12 ppm); las tres réplicas del bioensayo 5 se agregó 13.3 ml de Gramoxone® para obtener la última concentración (24 ppm) (Fig. 13).

Por cada cámara de bioensayo (Anexos Fig. 22), se utilizó un control de una réplica sin añadir ningún plaguicida. Para cada cristalizador se agregó un volumen total de 200 ml de agua salina de la preparación. Durante el proceso de la preparación de la solución madre y la disolución de prueba para la realización de las pruebas de toxicidad se utilizaron guantes, tapa boca, lentes de protección, pipetas, y bata tomando en cuenta todas las medidas de precaución necesarias para evitar cualquier daño a la salud.



**Figura 13.** Método de la preparación de las disoluciones de pruebas.

## Preparación del bioensayo

Por cada réplica del bioensayo se colocaron 10 organismos de *Laeonereis culveri* (Fig. 14), así como sedimento y agua previamente adicionados. Se esperó un periodo de 30 minutos para que los organismos se introdujeran en el sedimento de los bioensayos (Fig. 15). Posteriormente se agregó la solución tóxica a diferentes concentraciones en los bioensayos.



**Figura 14.** Organismos utilizados para la realización de los bioensayos.



**Figura 15.** Realización de los bioensayos.

## **Realización de las pruebas de toxicidad**

Para las lecturas de la mortalidad de los organismos en cada cámara de los bioensayos se realizaron lecturas a 1, 4, 8, 16, 24, 36 y 48 h de exposición (Tabla 18). Los organismos considerados como organismos muertos fueron aquellos con coloración pálida, hinchados y que se encontraran inmóviles en la superficie del sedimento (APHA, 1992). Una vez detectados los organismos muertos, fueron removidos de los cristalizadores con el uso de las pipetas de plástico.

## **Cálculo de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>)**

El Método Probit, también conocido como Método de Unidades Probabilísticas siguiendo el procedimiento de la Norma Oficial Mexicana NOM-078-ECOL-1994 fué utilizado mediante el análisis gráfico (APHA, 1992) para poder calcular la Concentración Letal Media y sus intervalos de confianza al 95% a 48 h de exposición en *Laeonereis culveri*.

A través de la Norma Mexicana NMX-AA-122-1995-SCFI, se llevaron a cabo los procedimientos de este estudio y los resultados obtenidos se graficaron mediante curvas de regresión Probit Empírico contra Log de la Concentración en el programa Microsoft Office Excel 2007, con sus respectivos límites de confianza.

## **Estimación del grado de toxicidad**

Tomando la Norma Mexicana NMX-AA-112-1995-SCFI como referencia para el cálculo de la toxicidad de los plaguicidas, la siguiente fórmula fue utilizada para calcular las Unidades de Toxicidad aguda (U.T.):

$$\text{U.T.} = (1/\text{CL}_{50}) * 100$$

Para poder saber la clasificación del grado de toxicidad de los plaguicidas estudiados se basó en las Unidades de Toxicidad aguda (U.T.) de acuerdo a la Tabla 5:

**Tabla 5.** Clasificación de toxicidad basada en Unidades de Toxicidad (Saldaña *et al.* 2002).

<b>Clasificación</b>	<b>Toxicidad (U.T.)</b>
<b>Altamente Tóxico</b>	>4
<b>Tóxico</b>	2-4
<b>Moderadamente Tóxico</b>	1.33-1.99
<b>Ligeramente Tóxico</b>	<1.33

### **Estimación del riesgo ecológico (RE)**

La caracterización del riesgo ecológico corresponde a la fase final del presente estudio, se realizó sobre la base de la integración de los datos de laboratorio y estimaciones teóricas de posibles efectos. El riesgo puede expresarse como la probabilidad de que un efecto adverso pueda ocurrir como resultado de la exposición a un determinado contaminante. El proceso general es una correlación del efecto ecológico con la concentración ambiental para proporcionar las probabilidades de que se produzcan los efectos ecológicos en el sistema.

La Evaluación de Riesgos Medioambientales (ERA) es un proceso gradual que parte de la utilización de pruebas de análisis de nivel y presunciones conservadoras hasta llegar a experimentos cada vez más realistas acompañados también de presunciones más realistas. Usando los datos pertinentes, se evaluó una concentración ambiental prevista (PEC) y una concentración sin efecto observable prevista (PNEC) respecto a cada compartimiento ambiental.

**PEC-** Concentración teórica de un tóxico al que es expuesto en el ambiente. En el ecosistema para el plaguicida se presenta un valor de PEC (Tabla 6).

**Tabla 6.** Valor PEC para Paraquat (SCP, 2002).

<b>Medio</b>	<b>PEC</b>
<b>Sedimentos (mg/Kg)</b>	0.73

**PNEC-** Para calcular el PNEC se utilizó el factor de incertidumbre 100 usado por la EPA para datos de toxicidad aguda ( $CL_{50}/100$ ) (Uc-Peraza y Delgado-Blas, 2012).

Para hacer la estimación del riesgo ecológico se utilizó el método recomendado por la APHA, el que consiste en dividir la concentración prevista en el ambiente, con la concentración que produce un efecto ambiental inaceptable. El riesgo de plaguicidas en sistemas acuáticos es calculado como el cociente PEC/PNEC que es empleado como un indicador de riesgo y se trata de una expresión cualitativa del riesgo (Varela, 2005).

### **Cociente de Riesgo (CR)**

La proporción PEC/PNEC se utiliza como indicador del riesgo y se denomina Cociente de Riesgo

(CR):  $CR < 1$  (es decir,  $PEC < PNEC$ ): PEC es inferior a PNEC por lo que no se prevén efectos nocivos.

$CR = 1$  (es decir,  $PEC = PNEC$ ): PEC y PNEC son muy similares lo que indica que es posible que se produzcan efectos nocivos. En este caso existen tres actuaciones posibles: perfeccionar la evaluación, reducir el uso (para reducir PEC) o no usar el elemento.

$CR > 1$  (es decir,  $PEC > PNEC$ ): PEC es superior a PNEC lo cual significa que es probable que se produzcan efectos nocivos. Esta situación conduce a dos actuaciones posibles: reducir la utilización hasta que PEC sea inferior a PNEC o no usar el elemento.

Un cociente de riesgo ( $CR = PEC/PNEC$ ) mayor o igual a 1 indica que hay probabilidad que los plaguicidas causen daño en el ecosistema. La relación entre ambas se toma como una medida de la probabilidad de que ocurrirá un daño.

La Tabla 7 muestra la clasificación del riesgo ambiental. Para facilitar la interpretación de los resultados, se ha optado por usar distintos colores según el riesgo calculado, representando en color rojo el riesgo Alto ( $CR \geq 10$ ), en color naranja el riesgo Moderado ( $CR 1-10$ ), y en color verde el riesgo Bajo ( $CR \leq 1$ ).

**Tabla 7.** Clasificación del Riesgo Ambiental según el Cociente de Riesgo (Sánchez, 2008).

Riesgo	CR (PEC/PNEC)
Alto	$\geq 10$
Moderado	1-10
Bajo	$\leq 1$

### Método Estadísticos

Se aplicó un análisis exploratorio para los datos obtenidos de las pruebas de toxicidad aguda con la finalidad de conocer el comportamiento general de los datos. Posteriormente, para analizar las diferencias de muertos entre las concentraciones del herbicida en el bioensayo de toxicidad aguda, se procedió a aplicar la estadística inferencial del análisis de varianza (ANOVA) de una vía (concentración de herbicida), con un diseño de bloques completo al azar, con el propósito de analizar las diferencias entre las concentraciones, considerando como variable de respuesta la mortalidad de *Laeonereis culveri* a 48 h de exposición al plaguicida Gramoxone®. Las ANOVAS se realizaron con un nivel de confianza de 95% y para este nivel de confianza se rechaza o se acepta la hipótesis estadística, es decir, la hipótesis nula. Para ello, se procedió a formular las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula = No presenta diferencias estadísticas significativas en la mortalidad evaluada entre las concentraciones.
- Hipótesis alterna = Existen diferencias estadísticas significativas en la mortalidad de las concentraciones.

Al observar las diferencias estadísticas se rechaza la hipótesis nula y se acepta a hipótesis alternativa. Los cálculos estadísticos se realizaron con el programa Microsoft Office Excel 2007 y el paquete JMP® Versión 8.

### **Recopilación de base de Datos:**

Para tener un indicador del número de estudios realizados sobre la toxicidad de diversos compuestos en poliquetos de los últimos 20 años se efectuó una búsqueda mediante la base de datos de Elsevier Scopus (Scopus, 2013), SpringerLink y Web of Science acotando la búsqueda con varias combinaciones de las palabras clave “bioensayos”, “poliquetos”, “toxicidad”, “bioassays”, “polychaeta”, “toxicology”. Además de incluir a las revistas clasificadas como indizadas, esta base de datos contiene artículos de revistas científicas de circulación regional y nacional no indizadas pero registradas en dicho sistema. Si bien no es completa dicha base de datos, si permite acceder a los trabajos más visibles en el área en el contexto internacional.

## RESULTADOS

### Evaluación de *Laeonereis culveri* por el método Probit mediante el cálculo de la CL<sub>50</sub> con diferentes concentraciones del plaguicida Gramoxone®.

#### Determinación de la Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>).

La Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>) se calculó por el Método Probit. Las concentraciones utilizados fueron de 1.5, 3, 6, 12 y 24 mg/l respectivamente. Se emplearon 10 organismos de *Laeonereis culveri* en cada cristalizador; durante 48 h de exposición del tóxico a los organismos, se observó una mortandad del 56.66% en la concentración de 24 mg/l, 36.66% de mortalidad en la concentración de 12 mg/l, 20% de mortalidad en la concentración de 6 mg/l, 13.33% de mortalidad en la concentración de 3 mg/l y el 3.33% en la concentración 1.5 mg/l (Tabla 8).

**Tabla 8.** Resultados obtenidos durante la realización del bioensayo con *Laeonereis culveri* con la toxicidad del plaguicida Gramoxone®.

Concentración (mg/l)	No. organismos expuestos	No. organismos muertos	Mortalidad por concentración (%)
24	30	17	56.66
12	30	11	36.66
6	30	6	20
3	30	4	13.33
1.5	30	1	3.33
Control	30	0	0

Para cada concentración se calculó el log, resultando, el log de la concentración de 24 mg/l fue de 1.38, el log de 12 mg/l fue de 1.07, el log de 6 mg/l fue de 0.77, el log de 3 mg/l fue de 0.47 y el log de 1.5 mg/l fue de 0.17.

Posteriormente, se calculó el valor de Probit Empírico relacionando el porcentaje de mortalidad de cada concentración (Tabla 9) con los valores (Tabla 10) que se obtuvieron de la Norma Oficial Mexicana (Prueba de toxicidad aguda con *Daphnia magna* (crustáceo-cladóceros) método de prueba). El Probit Empírico de un porcentaje de mortalidad de 56%, 36%, 20%, 13% y 3% fueron de 5.15, 4.64, 4.16, 3.87 y 3.12 respectivamente.

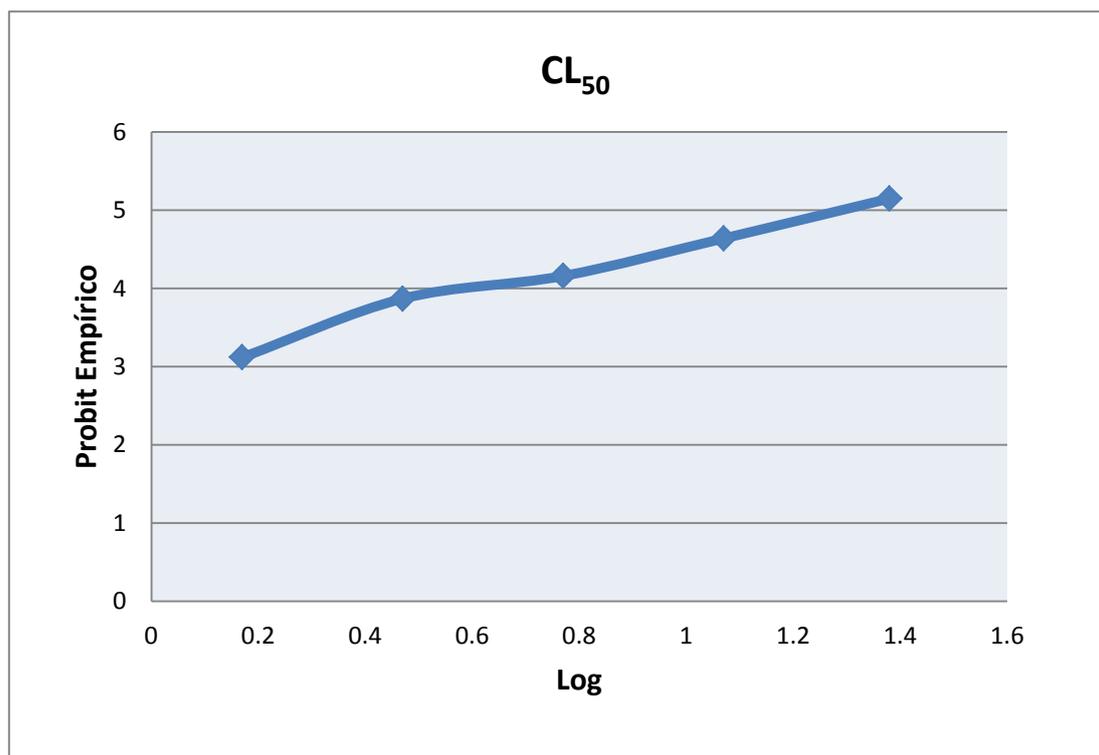
**Tabla 9.** Datos de toxicidad de *Laeonereis culveri* para el Método Probit.

Concentración (mg/l)	Log de la Concentración	No. de Organismos	Mortalidad Observada	% de Mortalidad	Probit Empírico
24	1.38	30	17	56.66	5.15
12	1.07	30	11	36.66	4.64
6	0.77	30	6	20	4.16
3	0.47	30	4	13.33	3.87
1.5	0.17	30	1	3.33	3.12

**Tabla 10.** Relación entre el Probit empírico y el porcentaje de mortalidad.

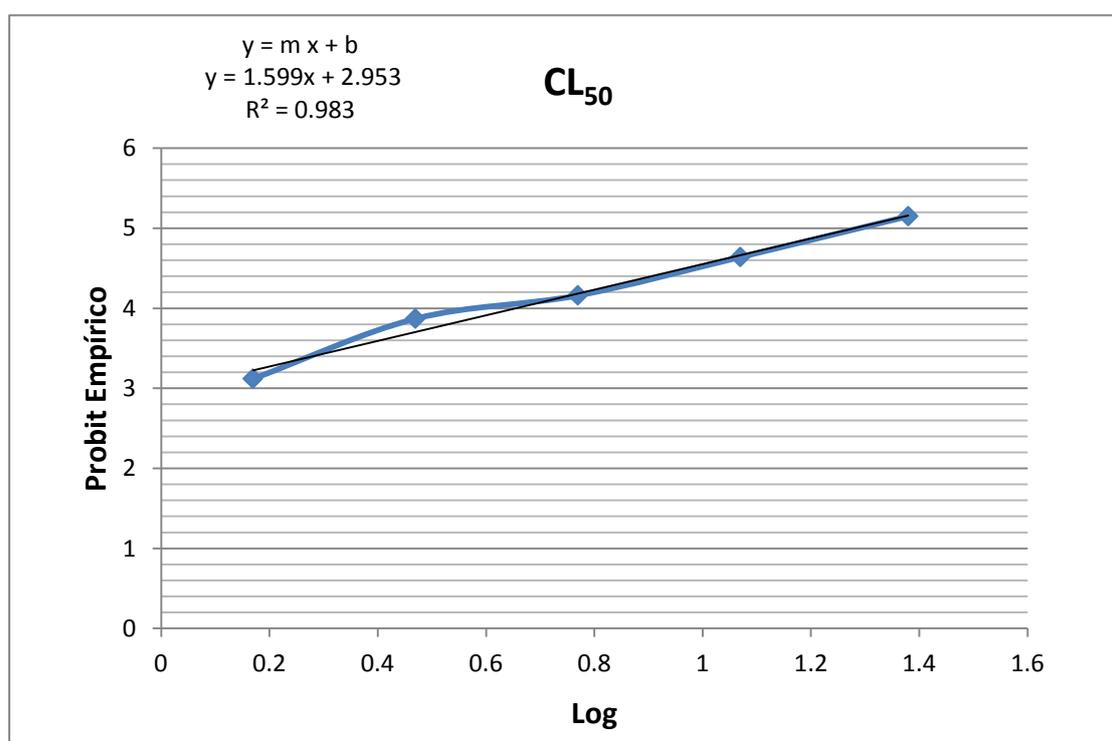
%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

Se graficaron los valores de Probit Empírico en el eje "Y" y los valores de log de la concentración en el eje de las "X", por medio del programa de Microsoft Excel 2007 (Fig. 16).



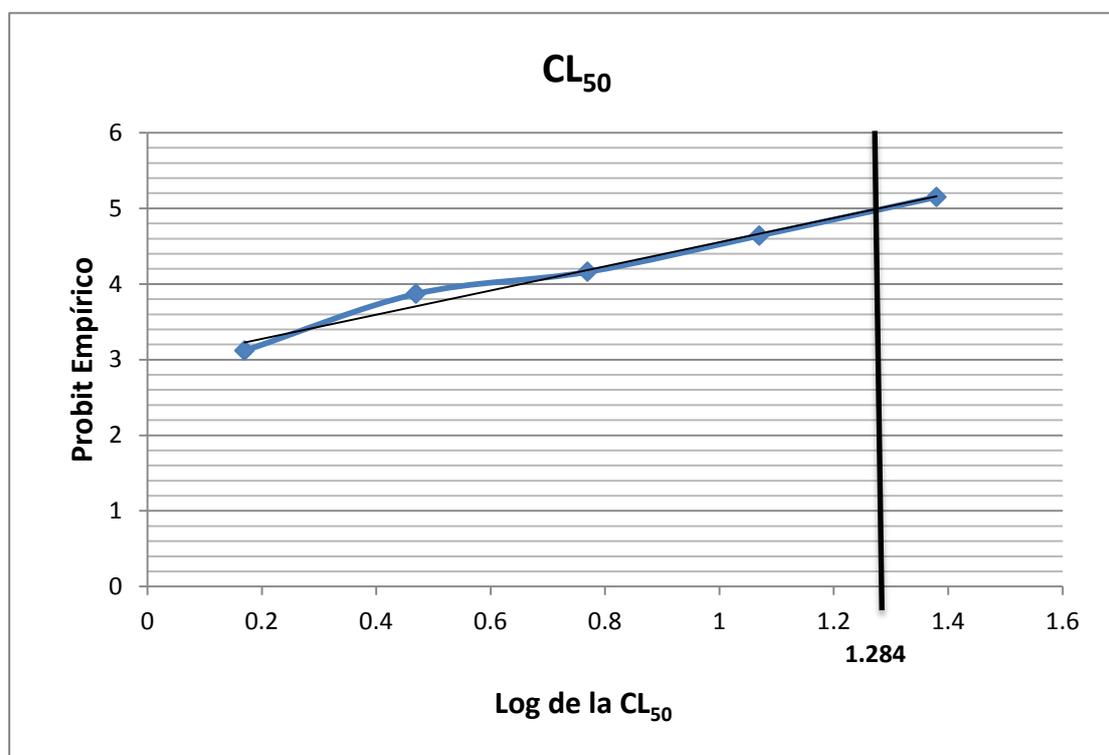
**Figura 16.** Representación gráfica del cálculo de la  $CL_{50}$ .

Posteriormente se realizó el ajuste de la línea por el método de mínimos cuadrados utilizando la ecuación de la recta:  $y = m x + b$ . Con este método se determinaron los valores de los parámetros  $m$  (pendiente) y  $b$  (ordenada al origen) de la recta que mejor se ajusta a los datos experimentales (Fig. 17). El valor de la pendiente ( $m$ ) fue de  $1.599 \approx 1.6$  y este valor se utilizó para el cálculo del Probit Calculado (PC).



**Figura 17.** Ajuste de la recta por el método de mínimos cuadrados.

Para obtener el valor de log de la  $CL_{50}$ , se trazó una recta perpendicular al eje "Y" exactamente en el valor Probit igual a 5 (el valor correspondiente a un % de mortalidad de 50%) y en el punto de intersección con la recta ajustada se proyectó hacia el eje "X". El valor del log de la  $CL_{50}$  fue de **1.284** (Fig. 18).



**Figura 18.** Representación gráfica del log de la  $CL_{50}$ .

Con el valor de Log de la  $CL_{50}$  ( $x = 1.284$ ), se procedió a determinar la concentración letal que elimina el 50% de los organismos ( $CL_{50}$ ) mediante la siguiente relación:

$$CL_{50} = \text{Antilog}_{10} x, \text{ (en } y = 5 \text{)}$$

**Simplificando:**

$$x = \log CL_{50} = 1.284$$

**Por lo tanto:**

$$CL_{50} = \text{Antilog} (1.284) = \mathbf{19.23 \text{ mg/l}}$$

El valor de **19.23 mg/l** representa la concentración letal media del herbicida Gramoxone® en *Laenoneis culveri* expuestos en la investigación.

### Determinación del Error Patrón

Primero se determinó "S" que está definido como el rango de incremento en el Probit Empírico (PE) para la obtención de PC (Probit Calculado) y tiene la siguiente relación:

$$S = \frac{X_2 - X_1}{PE_{Max} - PE_{Min}}$$

**Donde:**

$X_2$  y  $X_1$  = son los valores más bajos y más altos respectivamente obtenidos a partir de la concentración en log (x).

$PE_{Max}$  y  $PE_{Min}$  = son los valores más alto y más bajo respectivamente obtenidos a partir del Probit Empírico (PE).

**Sustituyendo:**

$$S = \frac{1.38 - 0.17}{5.18 - 3.12}$$

$$S = \frac{1.21}{2.06} = 0.587 \approx 0.6$$

Una vez que se obtuvo el valor de "S" se calculó el Probit Calculado con la siguiente relación:

$$PC = 5 + \frac{(X - m)}{S}$$

$$PC = 5 + \frac{(1.38 - 1.6)}{0.6} = 4.6$$

$$PC = 5 + \frac{(1.07 - 1.6)}{0.6} = 4.1$$

$$PC = 5 + \frac{(0.77 - 1.6)}{0.6} = 3.6$$

$$PC = 5 + \frac{(0.47 - 1.6)}{0.6} = 3.1$$

$$PC = 5 + \frac{(0.17 - 1.6)}{0.6} = 2.6$$

Para poder determinar el Error Patrón se procedió a realizar la Tabla 11. Se calculó el valor del factor ponderado (w) a partir de los valores de PC empleando la Tabla 12. Para las concentraciones 24, 12, 6, 3 y 1.5 mg/l los valores de Factor Ponderado (w) son 0.601, 0.471, 0.302, 0.154 y 0.062 respectivamente. Posteriormente se calcularon los productos de Nw, NwX y NwX<sup>2</sup> y finalmente la sumatoria de cada uno de los productos fue obtenida.

**Tabla 11.** Determinación del Error Patrón.

Log de la Concentración (X)	No. de Organismos (N)	Probit Calculado (PC)	Factor Ponderado (w)	Producto (Nw)	Producto (NwX)	Producto (NwX <sup>2</sup> )
1.38	30	4.6	0.601	18.03	24.8814	34.3363
1.07	30	4.1	0.471	14.13	15.1191	16.1774
0.77	30	3.6	0.302	9.06	6.9762	5.3716
0.47	30	3.1	0.154	4.62	2.1714	1.0205
0.17	30	2.6	0.062	1.86	0.3162	0.0537
<b>Sumatorias</b>				<b>47.7</b>	<b>49.5</b>	<b>57.0</b>

**Tabla 12.** Factor Ponderado (w)

	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
1	0.001	0.001	0.001	0.002	0.002	0.003	0.005	0.006	0.008	0.01
2	0.015	0.019	0.025	0.031	0.040	0.050	0.062	0.076	0.092	0.11
3	0.131	0.154	0.180	0.208	0.238	0.269	0.302	0.336	0.370	0.40
4	0.439	0.471	0.503	0.532	0.558	0.581	0.601	0.616	0.627	0.63
5	0.637	0.634	0.627	0.616	0.601	0.581	0.558	0.532	0.503	0.47
6	0.439	0.405	0.370	0.336	0.302	0.269	0.238	0.208	0.180	0.15
7	0.131	0.110	0.092	0.076	0.062	0.050	0.040	0.031	0.025	0.01
8	0.015	0.011	0.008	0.006	0.005	0.003	0.002	0.002	0.001	0.00

Después de haber obtenido el factor ponderado y los cálculos de los productos, los valores fueron sustituidos en la siguiente relación:

$$ESLog_{10}CL_{50} = S^2 \left[ \left( \frac{1}{\sum Nw} \right) + \left( \frac{\sum Nw(m - z)^2}{\sum Nw(NwX^2) - (\sum NwX)^2} \right) \right]^{0.5}$$

**Donde:**

**ES** = Error Estándar

**S** = Intervalo de Incremento

**m** = Pendiente obtenida por mínimos cuadrados

Para calcular el valor de z se utilizó la siguiente fórmula:

$$z = (NwX/Nw)$$

$$z = (49.5/47.7) = 1.04$$

**Sustituyendo:**

$$ESLog_{10}CL_{50} = (0.6)^2 \left[ \left( \frac{1}{47.7} \right) + \left( \frac{47.7 (1.6 - 1.04)^2}{47.7 (57.0) - (49.5)^2} \right) \right]^{0.5}$$

$$ESLog_{10}CL_{50} = (0.36) \left[ (0.021) + \left( \frac{47.7 (0.3136)}{2718.90 - 2450.25} \right) \right]^{0.5}$$

$$ESLog_{10}CL_{50} = (0.36) \left[ (0.021) + \left( \frac{14.95872}{268.65} \right) \right]^{0.5}$$

$$ESLog_{10}CL_{50} = (0.36)[(0.021) + (0.056)]^{0.5}$$

$$ESLog_{10}CL_{50} = (0.36)[(0.077)]^{0.5}$$

$$ESLog_{10}CL_{50} = (0.36)(0.277)$$

$$ESLog_{10}CL_{50} = 0.0998 \approx \mathbf{0.09}$$

El intervalo de confianza de la  $CL_{50}$  fue calculado con la siguiente relación:

$$\mathbf{IC\ CL_{50} = (CL_{50}) (ESLog_{10}\ CL_{50}) (Ln_{10})}$$

**Sustituyendo:**

$$IC\ CL_{50} = (19.23) (0.09) (2.3025)$$

$$IC\ CL_{50} = 3.98$$

Por lo tanto, el intervalo de confianza de la  $CL_{50}$  a 95% es:  $CL_{50} = 19.23\ mg/l \pm \mathbf{3.98}$ .

### Determinación de las Unidades de Toxicidad (U.T.)

Se realizó la determinación de las Unidades de Toxicidad (grado de toxicidad de un efluente, o la concentración de una sustancia expresada como una fracción del punto final de toxicidad medido:  $1/CL_{50}$ ) mediante la siguiente fórmula:

$$U.T. = (1/CL_{50}) * 100$$

#### Donde:

**U.T.** = Unidades de Toxicidad Aguda

**CL<sub>50</sub>** = Concentración teórica que origina el 50% de mortalidad de organismos expuestos con la muestra evaluada.

#### Sustituyendo:

$$U.T. = (1/19.23)* 100$$

$$U.T. = 5.2$$

En la Tabla 13 se puede observar que el grado de toxicidad del plaguicida es altamente tóxico debido a que su U.T. es  $> 4$  (Saldaña *et al.* 2002), lo que significa que no se descarta que ocasione problemas de toxicidad a los organismos del sistema acuático, en especial a los que habitan en el sedimento. A continuación en la siguiente tabla se puede ver la clasificación tóxica del plaguicida:

**Tabla 13.** Clasificación toxica del plaguicida Gramoxone® en *Laeonereis culveri*.

Plaguicida	U.T.	Clasificación
Gramoxone®	5.2	Altamente Tóxico

### Cálculo del riesgo ecológico del plaguicida Gramoxone®.

En la estimación del riesgo integrando los datos de exposición obtenidos a través de los datos de monitoreo químico (PEC) y los datos de los efectos obtenidos por los bioensayos ecotoxicológicos llevados a cabo en el laboratorio (PNEC), se encontró que el valor del PEC es superior al del PNEC por lo que el cociente de riesgo fue superior a 1 (Tabla 14).

**Tabla 14.** Riesgo ecológico del plaguicida como cociente de riesgo.

Plaguicida	PEC	PNEC (CL <sub>50</sub> /100)	CR
Gramoxone®	0.73	0.1923	3.8

**PEC** = Concentración ambientalmente prevista.

**PNEC** = Concentración observada.

**CR** = Cociente de Riesgo

De acuerdo con la clasificación del riesgo ambiental, se observó que el riesgo calculado es 3.8 que esta dentro el rango 1-10 por lo tanto se clasifica como un riesgo moderado (Tabla 7).

### Resultados del Método Estadístico

La estadística descriptiva de los resultados de la mortalidad en el bioensayo con *Laeonereis culveri*, está representada por valores de posición: percentil 25, 50 y 75; centralización: media, mediana y moda; y de dispersión: varianza, desviación estándar y error estándar (Tabla 15).

**Tabla 15.** Estadística descriptiva de la variable de mortandad.

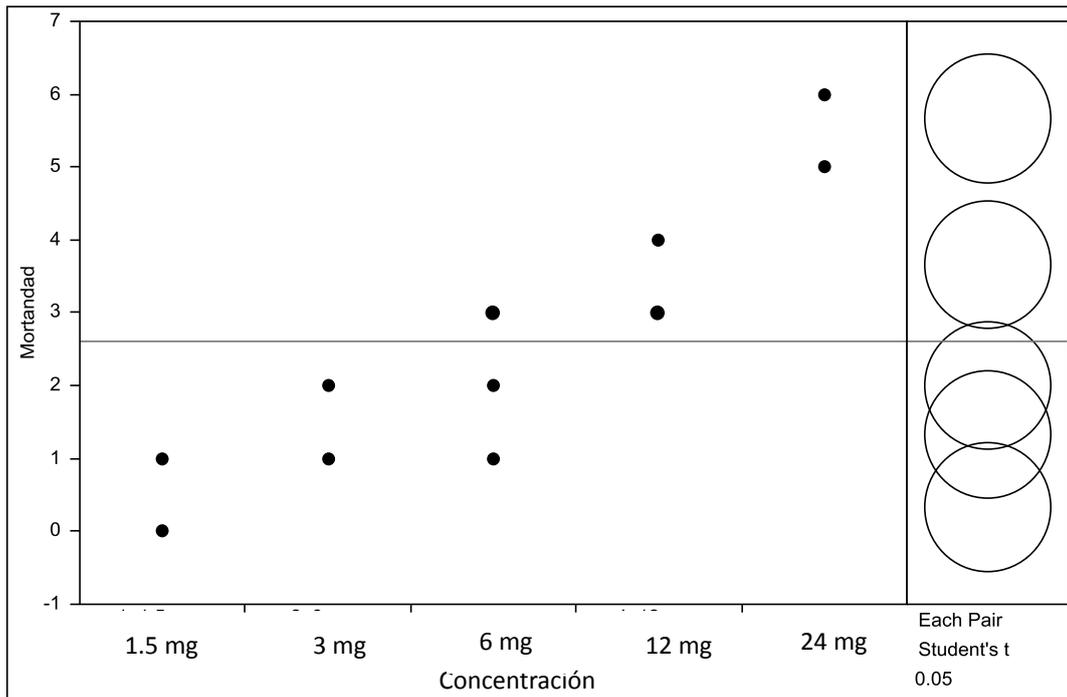
Número de Valores	Media	Mediana	Moda	Límite de Confiabilidad Inferior- 95%	Límite de Confiabilidad Superior- 95%		
15	2.6	2	1	1.476726	3.723274		
Mínimo	Máximo	Varianza	Desv. Std.	Error Estándar	Percentiles		
					25	50	75
0	6	4.1142856	2.0283702	0.5237229	1	2	4

Al aplicar el análisis de varianza se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 16.

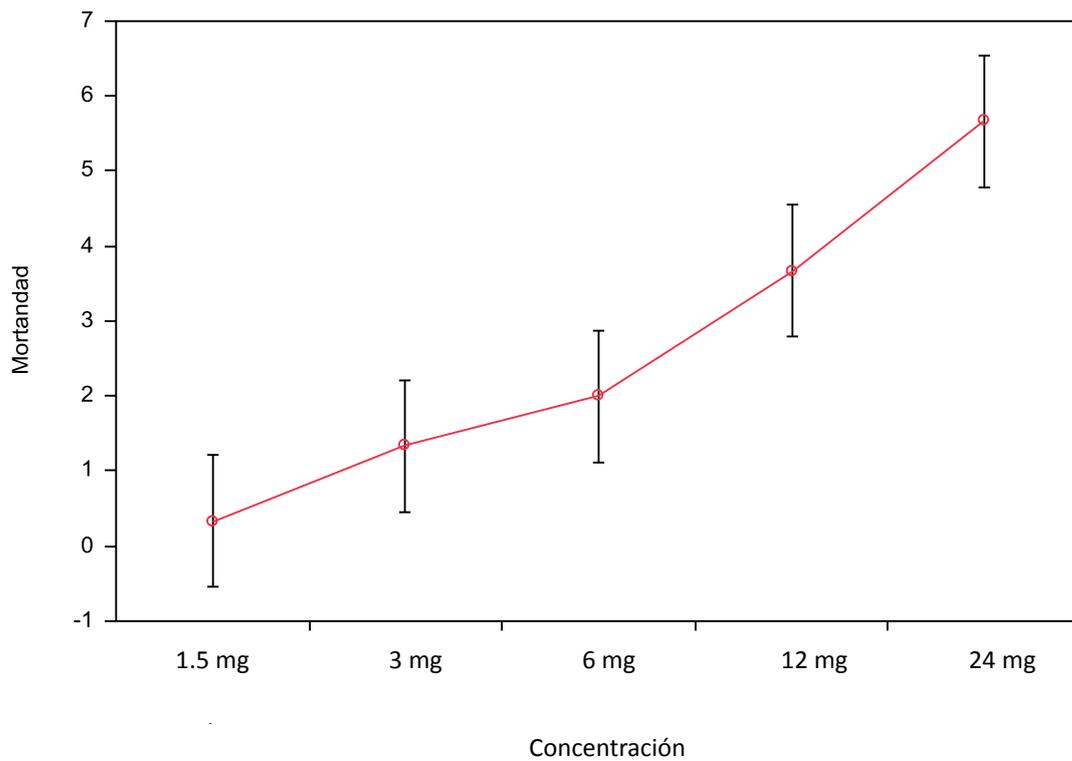
**Tabla 16.** Análisis de varianza de la variable de mortandad.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para P
Entre grupos	52.933333	4	13.2333	28.3571	<.0001*	0.05
Dentro de los grupos	4.666667	10	0.4667			
Total	57.600000	14				

Los resultados del análisis de varianza,  $F = 28.3571$  y el valor de probabilidad = 0.0001 es < que el valor crítico de probabilidad = 0.05, lo cual indica que existen diferencias significativas en la variable de mortandad de las diferentes concentraciones (Fig. 19). Se puede observar el promedio de la variable de mortandad en la Figura 20.

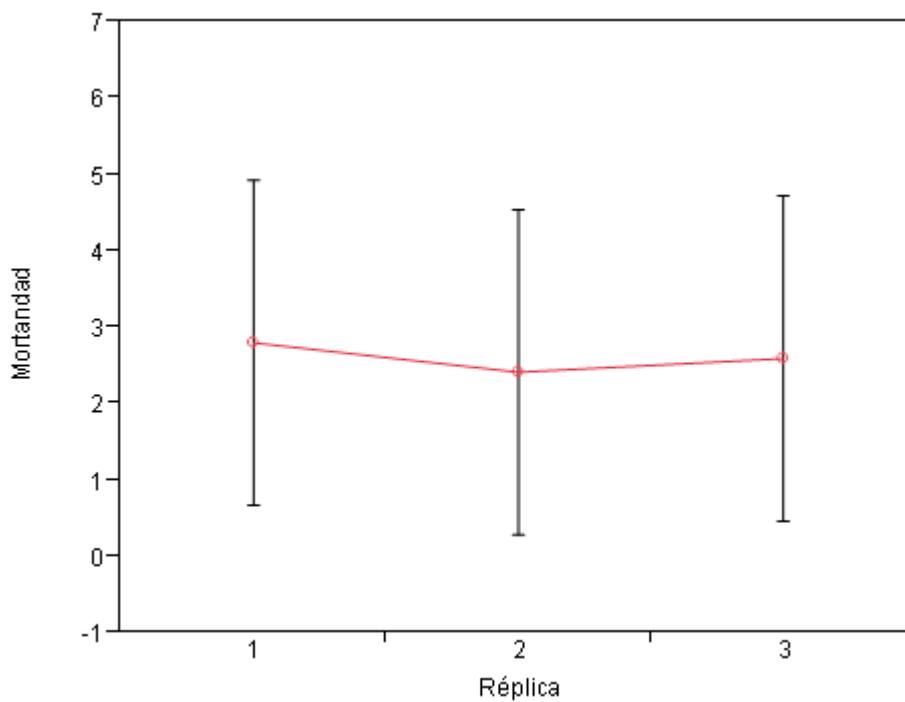


**Figura 19.** Análisis de las diferencias significativas de la variable de mortandad.



**Figura 20.** Promedio de la variable de mortandad por concentración.

Se aplicó un análisis de varianza a las réplicas de las concentraciones divididas en tres grupos, cada uno con las cinco concentraciones expuestas. Se obtuvo un factor de corrección  $F = 0.0420$  y el valor de probabilidad = 0.9591 es  $>$  que el valor crítico de probabilidad = 0.05 (Fig. 21), lo que significa que no existen diferencias significativas en la variable de muertos de las tres réplicas con diferentes concentraciones.



**Figura 21.** Promedio de la variable muertos para los grupos de réplicas.

De acuerdo con los artículos sobre bioensayos de toxicidad obtenidos en la base de datos de Elsevier Scopus y SpringerLink después de 1987 hasta marzo de 2013 se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 17). Se puede observar que los estudios toxicológicos relacionados con herbicidas mayormente se han empleado a los peces como: *Oncorhynchus mykiss*, *Clarias gariepinus* y *Channa punctatus*.

Más de 10 estudios utilizaron a la especie trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) como la especie de prueba (Barros Santiago y Gamez Rojas, 2008). También se encontró que más de 25 estudios realizados sobre la toxicidad (CL<sub>50</sub>) del herbicida Roundup® ninguno fue empleado con organismos de poliquetos, sino con distintas especies de peces tales como *Leporinus macrocephalus*, *Prochilodus lineatus*, *Oreochromis niloticus*, por mencionar algunas (Albinati et al. 2007).

**Tabla 17.** Toxicidad de herbicidas en organismos acuáticos.

Compuesto	Especie	Tiempo	CL <sub>50</sub>	Referencias
Garlon 4	<i>Oncorhynchus nerka</i> (Actinopterygii: Salmonidae),	96 h	1.3 mg/l	Servizi et al. 1987
	<i>Daphniapulex</i> (Branchiopoda: Daphnidae),		1.2 mg/l	
	<i>Salmo gairdneri</i> (Actinopterygii: Salmonidae),		2.2 mg/l	
	<i>OncorhynchusKisutch</i> (Actinopterygii: Salmonidae)		2.2 mg/l	
Roundup®	<i>Oncorhynchus nerka</i> (Actinopterygii: Salmonidae),	96 h	27.7 mg/l	Servizi et al. 1987
	<i>Daphniapulex</i> (Branchiopoda: Daphnidae),		25.5 mg/l	
	<i>Salmo gairdneri</i> (Actinopterygii: Salmonidae),		26.8 mg/l	
	<i>OncorhynchusKisutch</i> (Actinopterygii: Salmonidae)		42 mg/l	

Gramoxone®	<i>Clarias gariepinus</i> (Actinopterygii: Clariidae)	96 h	90 ppm	Oloruntuyi <i>et al.</i> 1992
MicroMicrotech® Bicep® Extrazine® Lexone®	<i>Ceriodaphnia dubia</i> (Branchiopoda: Daphnidae)	48 h	14.36 mg/l 15.93 mg/l 32.99 mg/l 35.36 mg/l	Ort <i>et al.</i> 1994
Roundup®	<i>Leporinus macrocephalus</i> (Actinopterygii: Anostomidae)	96 h	15.18 ppm	Albinati <i>et al.</i> 2007
Roundup®	<i>Prochilodus lineatus</i> (Actinopterygii: Curimatidae)	96 h	13.69 mg/l	Langiano y Martinez, 2008
Roundup®	<i>Piaractus brachypomus</i> (Actinopterygii: Characidae)	96 h	97.47 mg/l	Ramírez-Duarte <i>et al</i> 2008
Roundup® 747 SG	<i>Oncorhynchus mykiss</i> (Actinopterygii: Salmonidae)	96 h	1.006 mg/l	Barros Santiago y Gamez Rojas, 2008
Glifosato	<i>Oreochromis niloticus</i> (Actinopterygii: Cichlidae)	96 h	1.05 mg/l	Ayoola, 2008.
Atrazine	<i>Oreochromis niloticus</i> (Actinopterygii: Cichlidae)	96 h	5.02 mg/l	Botelho <i>et al.</i> 2009
Roundup®	<i>Channa punctatus</i> (Actinopterygii: Channidae)	96 h	32.54 mg/l	Nwani <i>et al.</i> 2010
Rasayanzine®	<i>Channa punctatus</i> (Actinopterygii: Channidae)	96 h	42.38 mg/l	Nwani <i>et al.</i> 2010
Paraquat®	<i>Clarias gariepinus</i> (Actinopterygii: Clariidae)	96 h	60 mg/l	Ladipo, 2011
Yerbimat®	<i>Goodea Atripinnis</i> (Actinopterygii: Goodeidae)	96 h	38.95 mg/l	Ortiz-Ordoñez <i>et al.</i> 2011
Gramoxone®	<i>Laeonereis culveri</i> (Polychaeta: Nereididae)	48 h	19.23 mg/l	En el presente estudio

## DISCUSIÓN

En términos de la biodiversidad en ambientes bénticos marinos, los poliquetos es el grupo mejor representado de la macrofauna marina (Salazar-Vallejo, 2008). No importa si el ambiente es contaminado o impoluto, con sustratos duros o de sustratos blandos, los poliquetos es usualmente el taxón más abundante. Debido a su tamaño pequeño, con ciclos de vida relativamente cortos y la facilidad de manejo en los cultivos han sido muy utilizados como especies indicadoras de condiciones ambientales tales como la calidad de agua, la diversidad de la comunidad y en pruebas ecotoxicológicas.

Actualmente existen muchos estudios donde se evalúan distintos compuestos como son: metales pesados, desechos industriales, aguas residuales, hidrocarburos, detergentes, materia orgánica etc. con diferentes especies bioindicadoras para pruebas de bioensayos, sin embargo, este es un estudio que determina la toxicidad de un herbicida utilizando poliquetos exclusivamente de la especie de *Laeonereis culveri* para pruebas de laboratorio por lo que el presente trabajo es el primero que lo realiza. Aparte de *Laeonereis culveri*, dentro de los estudios realizados de poliquetos como indicadores de contaminantes orgánicos tales como los plaguicidas, algunos otros organismos que se han utilizado anteriormente son los siguientes: *Neanthes arenaceodentata*, *Ophryotrocha diadema*, *Ophryotrocha puerilis*, *Nereis virens*, *Arenicola cristata*, *Eurythoe complanata*, *Mediomastus californiensis* y *Capitella capitata* (Dean, 2008).

Antes del presente estudio no se había evaluado la toxicidad de los herbicidas con poliquetos, pero sí se han utilizado otros organismos acuáticos, como son peces y cladóceros para evaluar la toxicidad de los herbicidas; con respecto al Gramoxone® exclusivamente sólo se ha utilizado a los peces para determinar su toxicidad. Sin embargo, debido a la escasez de estudios relacionados a la toxicidad del herbicidas con poliquetos, se compara en este estudio a *Laeonereis culveri* con otros organismos acuáticos. Se puede observar que en pruebas de toxicidad (Tabla 16), se emplea la especie *Clarias gariepinus* en Gramoxone® y en Paraquat® obteniendo una CL<sub>50</sub> de 90 ppm y 60 mg/l respectivamente en un periodo de 96 horas. En cuanto el valor que determina el 50% de la mortandad de la población de los organismos, la CL<sub>50</sub> del presente estudio fue de 19.23 mg/l para *Laeonereis culveri* a 48 horas. Las características fisiológicas de cada especie nos puede dar una idea de por qué *Clarias gariepinus* es más tolerante al Gramoxone® que *Laeonereis culveri*, además de esto

los poliquetos por tener un cuerpo suave, es más fácil la entrada del tóxico al organismo. La sensibilidad de las especies se varían dependiendo de las sustancias tóxicas a evaluar (Neff, 1987); ya que la toxicidad de un compuesto depende tanto de la concentración como del tiempo y la manera en que se ponga en contacto con los organismos.

Aparte de que los peces son organismos mayormente utilizados para los bioensayos también los antrópodos se han empleados para pruebas de toxicidad aguda. Las especies *Daphnia pulex* y *Ceriodaphnia dubia* pertenecen al grupo antrópoda (Cladóceros). Para los estudios toxicológicos de *Daphnia pulex* los compuestos fueron Garlon 4 y Roundup® ambos a 96 h con su concentración letal media de 1.2 mg/l y 25.5 mg/l. Para Microtech®, Bicep®, Extrazine® y Lexone® *Ceriodaphnia dubia* fue implementado con una duración de 48 h obteniéndose un CL<sub>50</sub> de 14.36 mg/l, 15.93 mg/l, 32.99 mg/l y 35.36 mg/l respectivamente. Se puede observar que el valor de la concentración letal media para estas dos especies fue de 1.2 mg/l a 35.36 mg/l y ambos son estudios para el compuesto de herbicidas.

También existen otros estudios donde se emplean a los poliquetos para evaluar y determinar la toxicidad de otros compuestos, como es el estudio de McLeese *et al.* 1982 donde utilizaron *Nereis virens* que pertenece a la familia Nereididae de los poliquetos para determinar la toxicidad de cinco compuestos organoclorados en agua y sedimento. Para los insecticidas Carbaril y Paratión-etilo *Arenicola marina* (Polychaeta: Arenicolidae) fue empleado a 48 horas (Conti, 1987), y otros estudios de plaguicidas organofosforados y carbamatos fueron realizados con la especie *Nereis diversicolor* también de la familia Nereididae (Scaps *et al.* 1997).

Para los estudios de metales pesados se emplearon varias especies de poliquetos tales como *Neanthes arenaceodentata*, *Nereis virens*, *Eurythoe complanata*, *Eudistylia vancouveri*, *Perinereis nuntia*, *Sabella spallanzanii*, *Laeonereis acuta*, *Capitella capitata* y *Perinereis aibuhitensis* (Dean, 2008). Dentro de estos estudios Cadmio, Cromo y Cobre fueron los más estudiados. Se puede observar que *Neanthes arenaceodentata* de la familia Nereididae y *Capitella capitata* de la familia Capitellidae fueron los poliquetos empleados con mayor frecuencia para determinar la toxicidad en los metales pesados (Reish, 1984). Por lo tanto, los poliquetos son buenos bioindicadores para estos compuestos. Para hidrocarburos se ha observado que también los poliquetos, en específico la especie *Neanthes arenaceodentata*, son empleados para evaluar los efectos agudos o crónicos de aquellos compuestos (Emery y Dillon, 1996).

Otros estudios sobre detergentes como el de Uc-Peraza y Delgado-Blas, 2012 utilizaron a *Laeonereis culveri* para determinar la toxicidad de los sulfanatos de alquilbenzeno de sodio lineal (LAS) en los detergentes domésticos. Con los datos obtenidos se concluye que existen muchos estudios toxicológicos de herbicidas en peces y son muy poco utilizados los poliquetos; sin embargo el uso de los poliquetos como bioindicadores mayormente se han aplicado en otros compuestos como los metales pesados y los hidrocarburos, por lo tanto, los estudios sobre la toxicidad de los herbicidas exclusivamente en poliquetos ha sido muy limitado.

Según las hojas de seguridad de los plaguicidas, el Gramoxone® es utilizado en agroquímicos comúnmente y se han realizado estudios de toxicidad previa para obtener informaciones ecotoxicológicas. Al aplicar una concentración de 42.8 mg/l de Gramoxone® se eliminó el 50% de la especie *Oncorhynchus mykiss* en peces durante 96 horas y hubo una inhibición de crecimiento en algas a la 72 horas de exposición. Para la toxicidad de los invertebrados acuáticos principalmente la especie *Daphnia magna*, al aplicar solamente 6.0 mg/l del plaguicida durante 48 horas se obtuvo la CL<sub>50</sub>. En comparación al presente estudio se presenta que *Laeonereis culveri* es más tolerante que *Daphnia magna* porque se requiere una aplicación de 19.23 mg/l de la sustancia tóxica para obtener la CL<sub>50</sub>. En consecuencia este método de prueba es eficiente para determinar la toxicidad de cualquier tipo de sustancia química ya que es menos costoso y a la vez no interrumpe la cadena alimenticia en el ecosistema. Además es un proceso fácil y viable llevado a cabo en el laboratorio, por lo tanto, se pueden observar detalladamente los diferentes cambios o reacciones durante el experimento para obtener datos confiables y precisos.

En el presente estudio, el comportamiento de la mortalidad de *Laeonereis culveri* con el plaguicida y los diferentes niveles de concentración a los que fueron expuestos, mostraron diferencias significativas al aplicar el análisis estadístico ANOVA al 95% de confiabilidad. Esto significa que el comportamiento de la mortalidad de *Laeonereis culveri* fue diferente al ser expuesto a los diferentes niveles de concentraciones del plaguicida. La evaluación de la toxicidad del Gramoxone® de tipo Bipiridilo en *Laeonereis culveri*, ha resultado de gran interés, ya que los datos del presente estudio muestran que el grado de toxicidad del plaguicida es altamente tóxico (Tabla 13), presentando 5.2 Unidades de Toxicidad. Esto significa que existe el riesgo de que el plaguicida cause efectos adversos a los organismos del sistema acuático, en especial a los organismos que habitan en el sedimento.

## CONCLUSIONES

La toxicidad del plaguicida Gramoxone®, se obtuvo con una  $CL_{50}$  de **19.23 mg/l**; siendo ésta la concentración teórica que eliminó al 50% de los organismos. Con el resultado obtenido de la  $CL_{50}$  a 48 h, se concluyó que el plaguicida es tóxico para *Laeonereis culveri*.

El análisis de varianza nos indicó que existían diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la mortalidad producida por diferentes concentraciones, por lo tanto se concluye que la mortalidad está directamente relacionada con la concentración. A mayor concentración mayor mortalidad.

La experimentación del plaguicida Gramoxone® con *Laeonereis culveri* usando el método de los bioensayos demostró que la especie fue sensible al tóxico para un periodo de exposición de 48 h. Esta especie puede ser utilizada para la evaluación de riesgos ecológicos por plaguicidas y como indicador de la calidad del agua, en específico en la Bahía de Chetumal, Q. Roo.

La evaluación de la toxicidad del plaguicida Gramoxone® en *Laeonereis culveri* fue clasificada como altamente tóxico, ya que los datos del presente estudio muestran que su grado de toxicidad es de 5.2 Unidades de Toxicidad.

Finalmente, de acuerdo a la información aportada en este trabajo, considerando el ámbito de aplicación, las dosis de uso recomendadas, la evaluación y el análisis del plaguicida Gramoxone®, se concluye de que el cociente de riesgo (CR) fue de 3.8 que es mayor a 1; ésto significa que hay una probabilidad de que el plaguicida pueda ocasionar daños o efectos adversos al ecosistema y a los organismos, en especial a los que habitan en el sedimento. Por lo tanto, lo anterior significa la existencia de un riesgo ambiental.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda dar seguimiento a la determinación de la toxicidad en cuerpos acuáticos contaminados por los plaguicidas, con otras especies de poliquetos. Con la finalidad de contar con una base que nos permita, en un futuro, comparar los datos y para la toma de decisiones.

De acuerdo con los plaguicidas que existen mundialmente, todos tienen sus hojas de seguridad y las informaciones para su manejo. Haciendo este trabajo se concluyó que los valores de los límites máximos permisibles de cada país varían debido a las normatividad y los reglamentos hechos en la legislación de cada país, por lo tanto, recomiendo que los valores de los límites máximos permisibles de cada plaguicida sean estandarizados para tener un mayor efectividad y a la vez un mejor manejo de los plaguicidas.

Además de los estudios ecotoxicológicos que ya se han hecho, recomiendo que se realicen más estudios con bioensayos de tipo crónico y subletal, para conocer más sobre los efectos de los plaguicidas existentes sobre sistemas (nervioso, respiratorio, circulatorio, inmune y excretor), órganos, crecimiento, comportamiento, reproducción, bioacumulación y biomasa. Así se podrán indicar las posibles formas de gestión y conservación de los ecosistemas naturales y proveer un ambiente seguro y saludable para las generaciones presentes y futuras.

Utilizar organismos de prueba aparte de los poliquetos como: peces, crustáceos, y moluscos, con el objetivo de generar diferentes informaciones ecotoxicológicas del mismo tóxico evaluado para mejorar nuestra región de Chetumal.

Se recomienda emplear a *Laeonereis culveri* para investigaciones de bioensayos, debido a su sensibilidad, abundancia y fácil manipulación.

## LITERATURA CITADA

- Alberdi J.L., Sáenz M.E., Di Marzio W.D. y Tortorelli M.C. (1996). Comparative acute toxicity of two herbicides, Paraquat and Glyphosate, to *Daphnia magna* y *D. spinulata*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. Nueva York. 57,229-235.
- Albinati, A.C.L., Moreira E.L.T., Abinatil R.C.B., Carvalho J.V., Santos G.B., Lira A.D. (2007). Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piaçu (*Leporinus macrocephalus*). Bras. Saúde Prod. An., Vol.8, pp 184-192.
- APHA-AEEA-WPCF (1992). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Editorial Díaz de Santos, S.A., Madrid, 1576 pp.
- Ayoola S.O. (2008). Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. Department of Marine Sciences, University of Lagos, Akoka, Yaba, Lagos State, Nigeria. African Journal of Agricultural Research Vol. 3, 12,825-834.
- Barberá C. (1989). Pesticidas agrícolas, Ed. Omega S.A., Barcelona, 569 pp.
- Barros Santiago C.P. y Gamez Rojas V.E. (2008). Determinación de la Concentración Letal Media  $CL_{50-96}$  del Glifosato Roundup® 747<sub>SG</sub>, por medio de bioensayos utilizando Alevinos de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*). Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Bogotá D. C. pp. 13-93.
- Benerjee B.D. (1999). The influence of various factors on immune toxicity assessment of pesticide chemical. Toxicology Letters. 107,21-31.
- Botelho R.G., Santos J.B., Oliveira T.A., Braga R.R., Byrro E. C. M. (2009). Toxicidade aguda de herbicidas a tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Planta Daninha*, Vol. 27, pp. 621-626.
- Butler G.C. (1978). Principles of Ecotoxicology. Scope 12. John Wiley and Sons, Chichester, New York, Brisbane, London, 350 pp.

- Carrillo L., Palacios-Hernández E., Ramírez A.M., Morales-Vela B. (2009). Características hidrometeorológicas y batimétricas, en Espinoza-Ávalos, J., Islebe, G., Hernández-Arana H. (eds.), Bahía Chetumal/Corozal: diversidad biológica y análisis ambiental en la frontera México-Belice: El Colegio de la Frontera Sur, Chetumal, Quintana Roo, México.
- Cebrián M., Carballas T. y Gil-Sotres F. (1988). Liming and the phosphatase activity and mineralization of phosphorus in an anodic soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 23, 209-215.
- Chen C.Y., Hathaway K.M., Thompson D.G., Folt C.L. (2008). Multiple stressor effects of Release, pH and food on the zooplankton, *Simocephalus vetulus* and larval amphibian, *Rana pipens*. *Exotoxicol. and Environ. Saftely* 71, 209-218.
- Comber M., Walker J., Watts C. y Hermens J. (2003). Quantitative structure- activity relationships for predicting potential ecological hazard of organic chemicals for use in regulatory risk assessments. *Environ. Toxicol. Chem.* 2, 1822-1828.
- Conti E. (1987). Acute Toxicity of Three Detergents and Two Insecticides in the Lugworm, *Arenicola marina* (L.): A Histological and Scanning Electron Microscope Study. *Aquat.Toxicol.* 10, 325-334.
- Dean H.K. (2008). The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review. *Universidad de Costa Rica. Rev. Biol. Trop.* Vol. 56, pp. 11-38.
- De Jesus-Navarrete A., Oliva-Rivera J.J., Valencia-Beltrán V. y Quintero-López N. (2000). Distribución de sedimentos en la Bahía de Chetumal, Quintana Roo, México. *Hidrobiológica.* 10, 61-67.
- De León González J.A. (1999). Nereididae (Annelida: Polychaeta) de México. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. H011. México D. F.
- Del Valls T. y Conradi M. (2000). Avances en ecotoxicología marina: comparación entre test de laboratorio y estudios in situ para la evaluación de la calidad ambiental de los sedimentos. *Ciencias Marinas.* 26, 39-64.

- Edwards P.J., Fletcher M.R. y Berny P. (2000). Review of the factors affecting the decline of the European brown hare, *Lepus europaeus* (Pallas, 1778) and the use of wildlife incident data to evaluate the significance of Paraquat. *Agr. Ecosyst. Environ.*, Amsterdam. 79, 95-103.
- Elandalousi L.M., Leite R.B., Rodrigues P.M., Afonso R. y Cancela M.L. (2008). Effects of herbicide Roundup® on *Perkinsus olseni* in vitro proliferation and in vivo survival when infecting a permissive host, the clam *Ruditapes decussatus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 80, 512-515.
- Elskus A.A. (2007). Pilot study of sublethal effects on fish of pesticides currently used and proposed for use on Maine blueberries. U.S. Geological Survey Open-File Report, 10 pp.
- Emery Jr. V.L. y Dillon T.M. (1996). Chronic Toxicity of Phenanthrene to the Marine Polychaete Worm, *Nereis (Neanthes) arenaceodentata*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 265-270.
- Encina F. y Díaz. O. (2001). Contaminación, estimación del riesgo ecológico y protección Asociado de algas bentónicas marinas. En: *Sustentabilidad Ambiental*. K. Alveal & Antezana Editores. Universidad de Concepción. pp. 336-357.
- EPA (Environmental Protection Agency, 1984). *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to fresh-water and marine organisms*, 4 ed. EPA, Washington, D.C. pp. 44-69.
- Fernandez M. (2002). Development of a Marine Pollution Monitoring Project for the Mesoamerican Barrier Reef System Project (MBRS). Belize Country Report.
- Finizio A., Calliera M. y Vighi M. (2001). Rating systems for pesticide risk classification on different ecosystems. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 49, 262-274.
- González-Bucio J.L., Carrión-Jimenez L.M., Gamboa O.Y. y López C.D. (2008). Contaminación de la Bahía de Chetumal por metales pesados, materia orgánica y nutrientes producidos por las descargas de aguas residuales municipales. *Caos Conciencia*. Vol. 3. 1, 5-11.

- Gonzalez-Escalante L.E. y Salazar-Vallejo S.I. (2003). A new estuarine species, *Nereis garwoodi* (Polychaeta: Nereididae), from Bahía Chetumal, Mexican Caribbean coast. *Rev. Biol.* Vol.51, pp. 155-164.
- Goodman B.A., Allison M.J., Oparka K.J. y Hillman J.R. (1992). Xenobiotics: Their activity and mobility in plants and soils. *J. Sci. Food Agric.* 59, 1-20.
- Harris L.H., de León-González J.A. y Salazar-Vallejo S.I. (2009). "Morfología, Métodos, Claves para Familias y Clasificación" en *Poliquetos (Annelida : Polychaeta) de México y América Tropical*. Tomo 1. pp. 3-32.
- Henry L. (1988). Recomendaciones concernientes a la selección de organismos parbioensayos acuáticos. (En línea) disponible en <http://www.cepis.opsoms.org/eswww/fulltext/publica/orimuest/omnanx51.html>.
- Hooper M.J., Mineau P., Zaccagnini M.E., Winegrad G.W. y Woodbridge B. (1999). Monocrotophos and the Swainson's hawk. *Pesticide Outlook*. 10, 97-102.
- Jayawardena U.A., Navaratne A.N., Amerasinghe P.H. y Rajakaruna R.S. (2011). Acute and chronic toxicity of four commonly used agricultural pesticides on the Asian common toad, *Bufo melanostictus* Schneider. *Journal of the National Science Foundation, Sri Lanka*. 39, 267-276.
- Ladipo M.K. (2011). Acute Toxicity, Behavioural Changes and Histopathological Effect of Paraquat Dichloride on Tissues of Catfish (*Clarias Gariepinus*). *International Journal of Biology*. Vol.3, pp 67-74.
- Lal R. (1982). Accumulation, metabolism and effects of organophosphorus insecticides on microorganisms. *Advances in Applied Microbiology*. 28, 149-200.
- Langiano V.d.C. y Martinez C.B.R. (2008). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology- C Toxicology and Pharmacology*. 147, 222-231.
- Larrain A. (1995). Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: importancia de los bioensayos de toxicidad. *Cienc. Tec. Mar.* pp. 39-47.

- Maciorowski A.F., Little L.W. y Sims J.L. (1980). Toxicological effects of biocide slimicide C-30 on some marine invertebrates. *Mar. Pollut. Bull.* 11, 294-296.
- Maciorowski A.F., Sims J.L., Little L.W. y Gerrard E.D. (1981). Bioassays- procedures and results. *J. Water Pollut. Control Fed.* 53, 974-993.
- Maciorowski A.F., Little L.W., Raynor L.F., Sims R.C. y Sims J.L. (1982). Bioassays-procedures and results. *J. Water Pollut. Control Fed.* 54, 830-848.
- Maciorowski A.F., Little L.W., Raynor L.F., Sims R.C. y Sims J.L. (1983). Bioassays-procedures and results. *J. Water Pollut. Cont. Fed.* 55, 801-816.
- Maroni M., Fait A. y Colosio C. (1999). Risk assessment and management of occupational exposure to pesticides. *Toxicology Letters*, 107, 145- 153.
- McLeese D.W., Burridge L.E. y Dinter J.V. (1982). Toxicities of five organochlorine compounds in water and sediment to *Nereis virens*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 28, 216-220.
- Méndez N. (2005). Effects of teflubenzuron on larvae and juveniles of the polychaete *Capitella* sp. B from Barcelona, Spain. *Water, Air, and Soil Pollution* 160, 259-269.
- Méndez N. (2006) Effects of teflubenzuron on sediment processing by members of the *Capitella* species-complex. *Environ. Pollut.* 139, 118-124.
- Méndez N. y Green-Ruíz C. (2005). Preliminary observations of cadmium and copper effects on juveniles of the polychaete *Capitella* sp. Y (Annelida: Polychaeta) from Estero del Yugo, Mazatlán, México. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 78, 701-710.
- Méndez N. y Green-Ruíz C. (2006). Cadmium and Copper Effects on Larval Development and Mortality of the Polychaete *Capitella* Sp Y from Estero Del Yugo, Mazatlan, Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution.* 171, 291-299.
- Méndez N., Anguas-Cabrera D.N. y García-de la Parra L.M. (2008). Effects of methamidophos on sediment processing and body mass of *Capitella* sp. Y from Estero del Yugo, Mazatlán, México. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 361, 92-97.

- Moraes R. (2002). A Procedure for ecological tiered Assessment of risks (PETAR). Department of Environmental Systems Analysis. Chalmer University of Technology Göteborg, Sweden.
- Mulla M.S. y Mian L.S. (1981). Biological and environmental impacts of the insecticides malathion and parathion on nontarget biota in aquatic ecosystems. *Residue Reviews*. 78, 101-135.
- Muñoz C.Z. (2004). Evaluación de Riesgo Ecotoxicológico, asociado al uso de plaguicidas y su impacto sobre especies acuáticas. pp. 14-30.
- Neff J. (1987). Biological effects of oil in the marine environment. *Chem. Engin. Progress* 11. 25pp.
- Nimmo D.R. y Mcewen L.C. (1998). Pesticides. *In: CALOW, P. Handbook of Ecotoxicology*. Oxford, Blackwell Sciences. Cap. 8. pp.619-667.
- Nwani C. D., Nagpure N. S., Kumar R., Kushwaha B., Kumar P. y Lakra W. S. (2010). Lethal concentration and toxicity stress of Carbosulfan, Glyphosate and Atrazine to freshwater air breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). *Int. Aquat. Res.* 2, 105-111.
- Oloruntuyi O.O., Mullero O. y Odukale B. (1992). The effects of two pesticides on *Clarias gariepinus*. *In: Proceedings of the 10th Conference of the Fisheries Society of Nigeria, Abeolcuta, Nigeria*. pp. 173-177.
- Ort M.P., Fairchild J.F. y Finger S.E. (1994). Acute and Chronic Effects of Four Commercial Herbicide Formulations on *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Contam. Toxicol.* 27, 103-106.
- Ortiz-Ordoñez E., Uría-Galicia E., Ruiz-Picos R.A., Sánchez Duran A.G., Trejo Y.H., Sedeño-Díaz J.E. y López-López E. (2011). Effect of Yerbimat Herbicide on Lipid Peroxidation, Catalase Activity, and Histological Damage in Gills and Liver of the Freshwater Fish *Goodea Atripinnis*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 443-452.
- OSHA (Occupational Safety & Health Administration). United States Department of Labor. (En línea) disponible en [www.OSHA.gov](http://www.OSHA.gov).

- Palma G., Sánchez A., Olave Y., Encina F., Palma R. y Barra, R. (2004). Pesticide levels in surface waters in an agricultural-forestry basin in Southern Chile. *Chemosphere*. 57, 763-770.
- Ramírez-Duarte W.F., Rondón-Barragán I.S. y Eslava-Mocha P.R. (2008). Acute toxicity and histopathological alterations of Roundup® herbicide on “cachama blanca” (*Piaractus brachypomus*). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28, 547-554.
- Ranatunge R.A.A.R., Wijesinghe M.R., Ratnasooriya W.D., Dharmarathne H.A.S.G. y Wijesekera R.D. (2012). Cadmium-induced toxicity on larvae of the common Asian toad *Duttaphrynus melanostictus* (Schneider, 1799): Evidence from empirical trials. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89, 143-146.
- Rand G.M. (1995). *Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment*, 2ed. Ed. Taylor y Francis, Washington, D.C. pp. 1125.
- Reish D.J. (1984). Marine ecotoxicological tests with polychaetous annelids. *Ecotoxicol. Test. Mar. Environ., U.S.A.* 1, 427-454.
- Reish D.L. y Oshida P. (1987). *Manual of methods in aquatic environment research. Part 10, Short-Term static bioassays*. FAO Fisheries Technical Paper 247. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Salazar-Vallejo S.I., de León González J.A. y Salaices-Polanco H. (2008). *Poliquetos (Annelida: Polychaeta) de México: Generalidades, Claves Ilustradas para Familias y Géneros, y Bibliografía Lista de Especies*. Libros, Univ. Autón. Baja Calif. Sur, La Paz, 211 pp.
- Saldaña P.F., Alcocer V.H., Lerdo de Tejada B.A. y Gómez M.A. (2002). Calidad del agua en colectores de la ciudad de Puebla y la aplicación de análisis de toxicidad. XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México 27 al 31 de Octubre, 2002.
- Sánchez O.A. (2008). *Evaluación de riesgos ambientales del uso de plaguicidas empleados en el cultivo del arroz en el Parque Natural de La Albufera de Valencia*. Tesis Doctoral. Valencia. Departamento de Biotecnología.

- Scaps P. y Borot O. (2000). Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 125, 377 – 383.
- Scaps P., Demuynck S., Descamps M. y Dhainaut A. (1997). Effects of Organophosphate and Carbamate Pesticides on Acetylcholinesterase and Choline Acetyltransferase Activities of the Polychaete *Nereis diversicolor*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 33, 203-208.
- Schauber E.M., Edge W.D. y Wolff J.O. (1997). Insecticide Effects on Small Mammals- Influence of Vegetation Structure and Diet. Ecological Applications. 7, 143-157.
- SCP (Scientific Committee on Plants) (2002). Opinion of the Scientific Committee on Plants on Specific Questions from the Commission Regarding the Evaluation of Paraquat in the Context of Council Directive. European Commission. Belgium, 12 pp.
- Servizi J.A., Gordon R.W. y Martens D.W. (1987). Acute Toxicity of Garlon 4 and Roundup Herbicides to Salmon, Daphnia and Trout. Environ. Contam. Toxicol. 39, 15-22.
- Truhaut R. (1977). "Eco-Toxicology – Objectives, Principles and Perspectives", Ecotoxicology and Environmental Safety. Vol. 1, pp. 151–173.
- Truhaut R. (1986) Ecotoxicology, a new branch of toxicology: a general survey of its aims, methods and prospects. En: Hodgson E, Reviews on environmental toxicology. Use of laboratory models ecosystems for the evaluation of environmental contaminants. Elsevier Science Publishers B.D., Amsterdam.
- Uc-Peraza R.G. y Delgado-Blas V.H. (2012). Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de cuatro detergentes domésticos biodegradables en *Laeonereis culveri* (Webster 1879) (Polychaeta: Annelida). Rev. Contam. Amb. Vol. 28. 2, 137-144.
- Varela R.A. (2005). Determinación del nivel de toxicidad aguda del fungicida carbendazim y el herbicida 2,4 d mediante bioensayos con *Galaxias maculatus*. Tesis de Licenciatura. Chile. Universidad Católica de Temuco. pp. 28-29.

- Vázquez-Núñez R., Méndez N. y Green-Ruiz C. (2007). Bioaccumulation and Elimination of Hg in the Fireworm *Eurythoe complanata* (Annelida: Polychaeta) from Mazatlan, Mexico. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 52, 541-548.
- Vighi M. y Bacci E. (1998). La stima del rischio ambientale. En: Ecotoxicología. Vighi, M., Bacci E., UTET. Torin. 205 pp.
- Villa S., Vighi M., Casini S. y Focardi S., (2003). Pesticide risk assessment in a lagoon ecosystem. Part II: Effect Assessment and Risk Characterization. Environ. Toxicol. Chem. 22, 936-942.
- Villanueva L.C. (2004). Chetumal: Modelo de Desarrollo Urbano En El Trópico Húmedo Mexicano. REVISTA DEL CESLA NO. 6. (En línea) disponible en [http://www.cesla.uw.edu.pl/www/images/stories/wydawnictwo/czasopisma/Revista/Revista\\_6/89-104.pdf](http://www.cesla.uw.edu.pl/www/images/stories/wydawnictwo/czasopisma/Revista/Revista_6/89-104.pdf).
- Vismara C., BattistaV., Vailati G., y Bacchetta R. (2000). Paraquat induced embryotoxicity on *Xenopus laevis* development. Aquat. Toxicol. Amsterdam, 49, 171-179.
- Ware G.W. y Roan C.C. (1970). Interaction of pesticides with aquatic microorganisms and plankton. Residue Rev. 20, 15-45.
- Ware G.W. y Whitacre D.M. (2004) The Pesticide Book, 6th Ed. Meister Media Worldwide. Willoughby, Ohio. 488 pp
- Webster H.E. (1879). Annelida Chaetopoda of the Virginian coast. Trans. Albany Inst., New York. 9, 202-269.
- WHO (1993). Guía Para La Salud y La Seguridad (Traducido por Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PISSQ)). México: Organización Mundial de la Salud. (Original publicado en 1991.) 26pp.
- Wijesinghe M.R. (2012) Presidential Address. Ecotoxicology: Why is it a discipline of growing importance? Institute of Biology, Sri Lanka. Department of Zoology, University of Colombo. 6 pp.

# ANEXOS

## Anexo1. Bioensayos

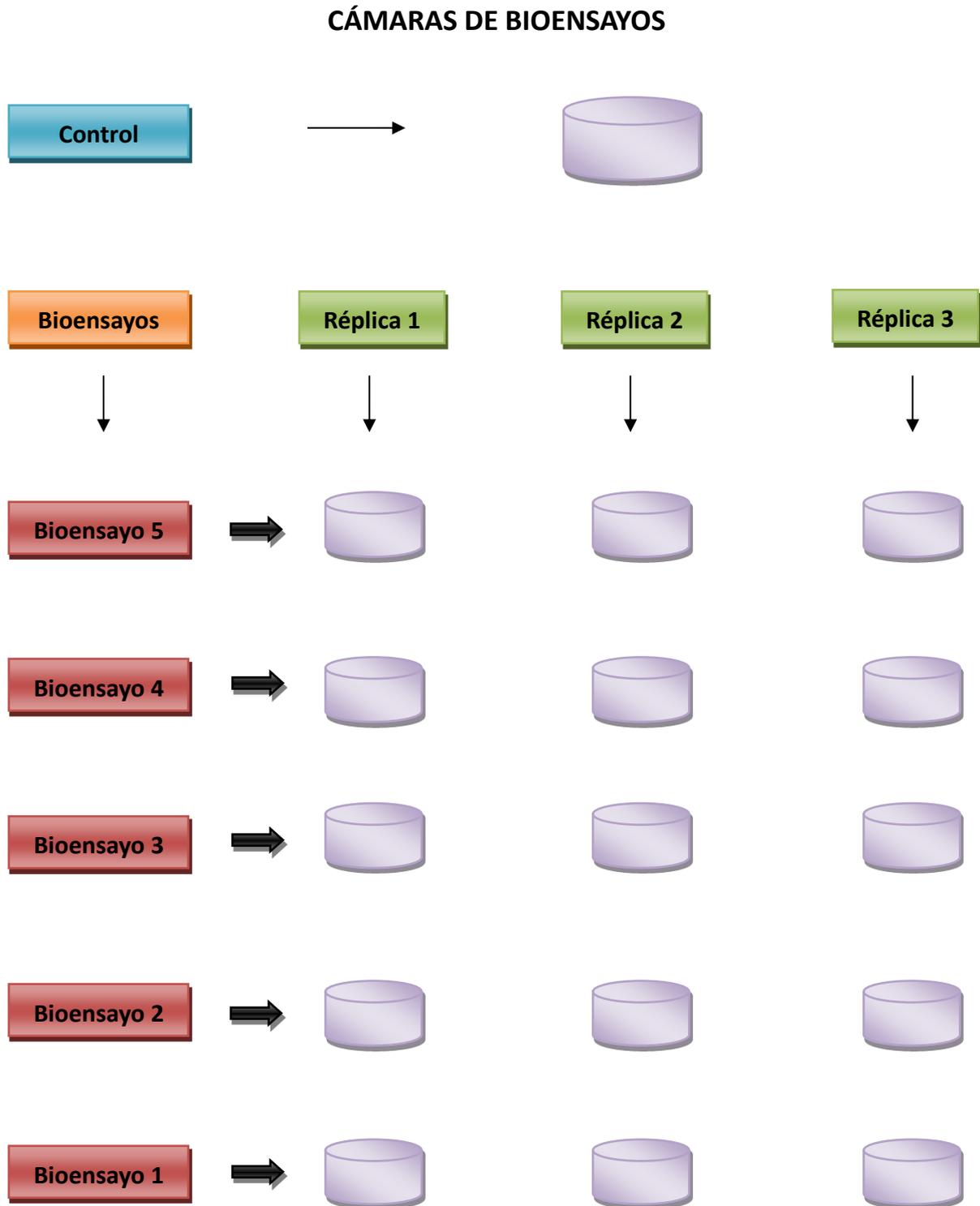


Figura 22. Esquematización de la cámara de bioensayo.

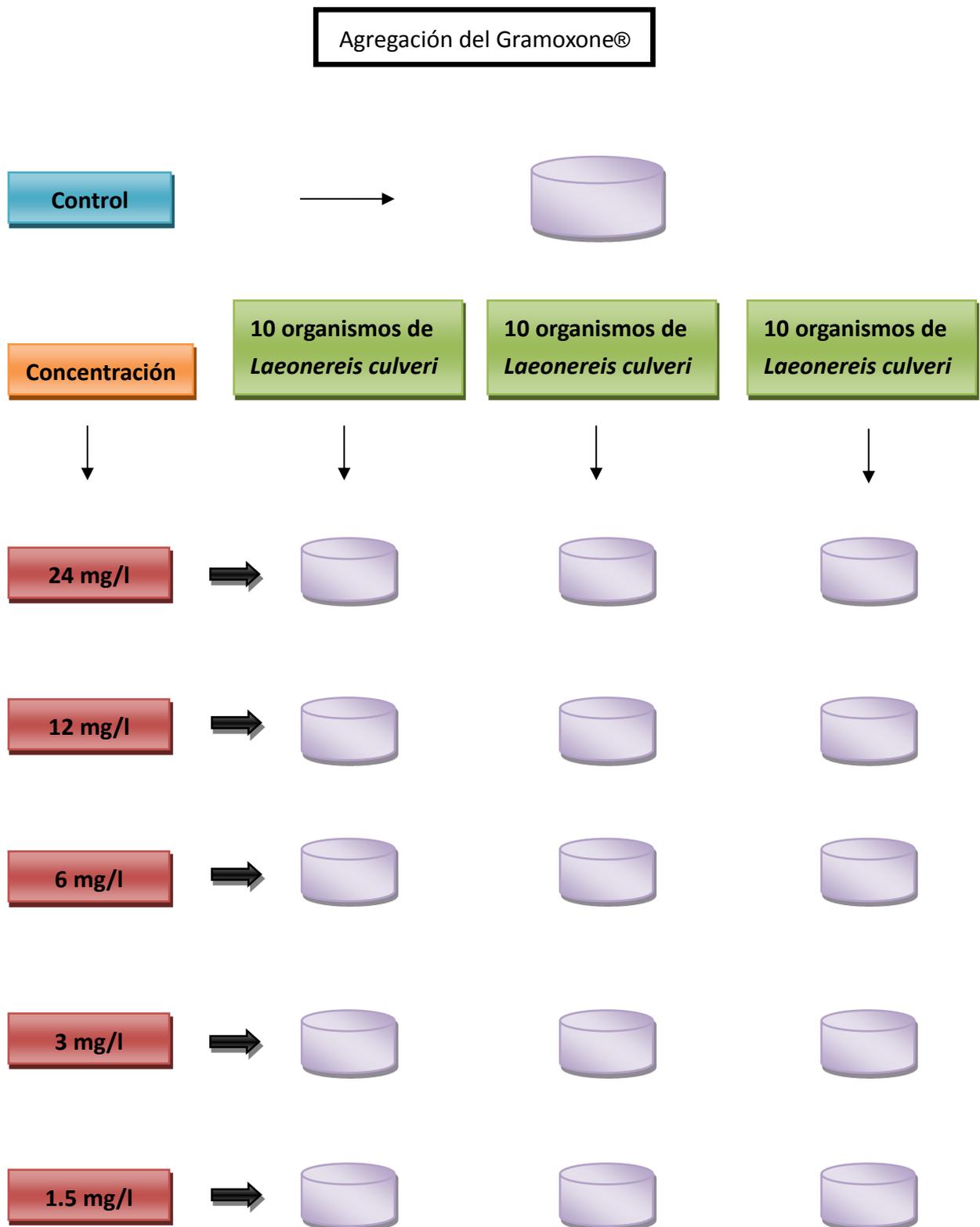


Figura 23. Esquematización de la cámara de bioensayo con el plaguicida Gramoxone®.

## Anexo 2. Resultados

### CÁLCULO DE LAS DISOLUCIONES DE PRUEBAS

72.4% DEL Gramoxone®

72.4 gr = 100 ml

724 gr = 1000ml

724,000 mg/lt

724,000 mg = 1000 ml

X = 0.5 ml

X = 362 mg

Dato: 0.5 ml se afora a 1000 ml

362 mg/lt - Manera Alícuota

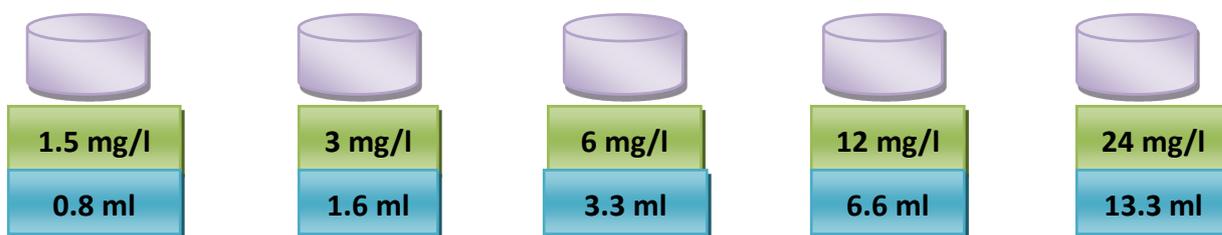


Figura 24. Esquematización de las disoluciones de pruebas.

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(362 \text{ mg}) (V_1) = (1.5 \text{ mg}) (200\text{ml})$$

$$(V_1) = \mathbf{0.8 \text{ ml}}$$

$$(362 \text{ mg}) (V_2) = (3 \text{ mg}) (200\text{ml})$$

$$(V_2) = \mathbf{1.6 \text{ ml}}$$

$$(362 \text{ mg}) (V_3) = (6\text{mg}) (200\text{ml})$$

$$(V_3) = \mathbf{3.3 \text{ ml}}$$

$$(362 \text{ mg}) (V_4) = (12 \text{ mg}) (200\text{ml})$$

$$(V_4) = \mathbf{6.6 \text{ ml}}$$

$$(362 \text{ mg}) (V_5) = (24 \text{ mg}) (200\text{ml})$$

$$(V_5) = \mathbf{13.3 \text{ ml}}$$

## CÁLCULO DE LA MORTANDAD DE *LAEONEREIS CULVERI*

**Tabla 18.** Mortalidad de *Laeonereis culveri* con el plaguicida Gramoxone® a 48 h.

Réplicas	Tiempo de Exposición							Muertos	Vivos	Total
	1 h	4 h	8 h	16 h	24 h	36 h	48 h			
<b>Control</b>										
<b>Control</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
<b>Bioensayo 5</b>										
<b>Réplica 1</b>	1	1	1	1	0	1	0	5	5	10
<b>Réplica 2</b>	0	2	1	1	1	1	0	6	4	10
<b>Réplica 3</b>	1	1	2	1	0	1	0	6	4	10
<b>Bioensayo 4</b>										
<b>Réplica 1</b>	1	1	0	1	0	1	0	4	6	10
<b>Réplica 2</b>	1	1	1	0	0	0	0	3	7	10
<b>Réplica 3</b>	1	1	0	1	0	1	0	4	6	10
<b>Bioensayo 3</b>										
<b>Réplica 1</b>	0	1	1	0	0	1	0	3	7	10
<b>Réplica 2</b>	0	1	0	1	0	0	0	2	8	10
<b>Réplica 3</b>	0	0	0	1	0	0	0	1	9	10
<b>Bioensayo 2</b>										
<b>Réplica 1</b>	0	1	0	0	0	0	0	1	9	10
<b>Réplica 2</b>	0	1	0	0	0	0	0	1	9	10
<b>Réplica 3</b>	0	1	1	0	0	0	0	2	8	10
<b>Bioensayo 1</b>										
<b>Réplica 1</b>	0	1	0	0	0	0	0	1	9	10
<b>Réplica 2</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
<b>Réplica 3</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10

### Anexo 3. Plaguicida utilizado en los bioensayos.

#### Gramoxone



Figura 25. Herbicida del grupo químico Bipiridilo.

**Nombre comercial:** Gramoxone®.

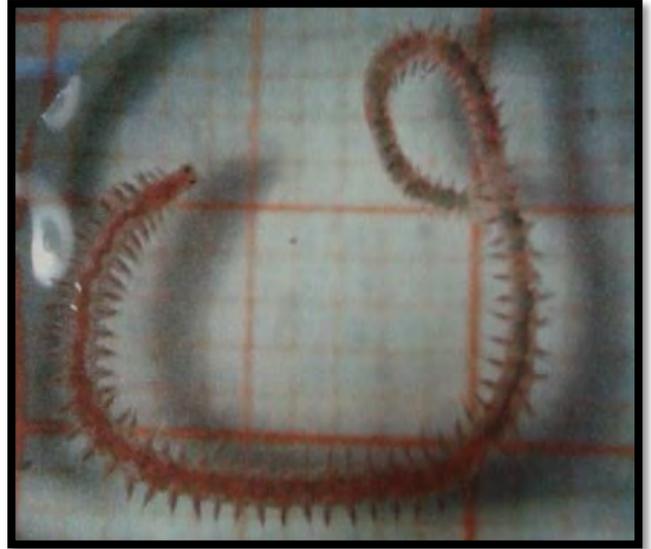
**Ingrediente activo:** Paraquat: Sal dicloruro del ion 1,1'-dimetil-4,4' bipiridilio.

**No. CAS:** 1910-42-5.

**No. ONU (UN):** 2922.

**Anexo 4. Organismo utilizado en los bioensayos.**

***Laeonereis culveri* (Polychaeta)**



**Figura 26.** *Laeonereis culveri*

**Taxonomía**

**Reino:** Animalia

**Filo:** Annelida

**Clase:** Polychaeta

**Orden:** Aciculata

**Familia:** Nereididae

**Género:** *Laeonereis*

**Espécie:** *Laeonereis culveri* (Webster, 1879)