

ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

EVALUATION OF THE AQUATIC ENVIRONMENTAL RISK OF THE MIXTURE OF THE PESTICIDES IMIDACLOPRID (INSECTICIDE) AND PROPINEB (FUNGICIDE) IN *DAPHNIA MAGNA* STRAUS, 1820

EVALUACIÓN DEL RIESGO AMBIENTAL ACUÁTICO DE LA MEZCLA DE LOS PLAGUICIDAS IMIDACLOPRID (INSECTICIDA) Y PROPINEB (FUNGICIDA) EN *DAPHNIA MAGNA* STRAUS, 1820

Cristiam Escobar-Chávez¹; Lorena Alvarino² & José Iannacone^{1,2,3}

1 Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Científica del Sur, Villa el Salvador, Lima, Perú.

2 Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú.

3 Laboratorio de Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú.

Author for correspondence: joseiannacone@gmail.com

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the aquatic environmental risk of the mixture of the pesticides imidacloprid (insecticide) and propineb (fungicide) in microcrustacean *Daphnia magna* Straus, 1820. For 24 and 48 h exposure tests, standardized cultures of *D. magna* were used. The pesticides imidacloprid, propineb and the mixture of both (imidacloprid + propineb) were evaluated. The results obtained indicated that for *D. magna* the toxic effect is minor or antagonistic when both pesticides act together. The decreasing order of acute toxicity was as follows: propineb > imidacloprid > (imidacloprid + propineb) mixture. The Environmental Risk Assessment (ERA) indicated that imidacloprid did not represent a risk individually or in admixture; however, when making use of a safety factor (SF), risk was observed. On the other hand, the ERA of propineb indicated that it represents a risk to the aquatic environment.

Keywords: Expected environmental concentration – Environmental risk assessment (ERA) – Mean lethal concentration (LC₅₀) – mixture of pesticides

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el riesgo ambiental acuático de la mezcla de los plaguicidas imidacloprid (insecticida) y propineb (fungicida) en el microcrustáceo *Daphnia magna* Straus, 1820. Para los ensayos de 24 y 48 h de exposición, se emplearon cultivos estandarizados de *D. magna*. Se evaluaron los plaguicidas imidacloprid, propineb y la mezcla de ambos (imidacloprid + propineb). Los resultados obtenidos indicaron que para *D. magna* el efecto tóxico es menor o antagónico cuando actúan ambos plaguicidas en conjunto. El orden decreciente de la toxicidad aguda fue el siguiente: propineb >imidacloprid >mezcla de imidacloprid + propineb. La Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA) indicó que el imidacloprid no representó un riesgo individual o en mezcla; sin embargo, al hacer uso de un factor de seguridad (FS) se observó riesgo. Por otro lado, la ERA del propineb indicó que representa un riesgo para el ambiente acuático.

Palabras clave: Concentración letal media (CL_{50}) – Concentración ambiental prevista (CAE) –Evaluación de riesgo ambiental (ERA) – mezcla de los plaguicidas

INTRODUCCIÓN

La actividad agrícola ha atravesado procesos de transformación que han derivado en un aumento de las áreas de cultivo. Esta situación ha implicado un aumento en la liberación de sustancias químicas, o plaguicidas, ya sean naturales o sintéticos, imprescindibles para el control de plagas, principalmente en los procesos de producción intensivos. Los plaguicidas, han sido diseñados específicamente para combatir a organismos vivos, las plagas, que causan efectos no deseados sobre cultivos agrícolas y forestales (Gomero-Osorio & Von Hildebrand, 1990; Sotelo & Iannacone, 2019).

En el Perú, para el año 2016 la producción de los principales cultivos de hortalizas como el espárrago y el tomate fue de 146,7 y 93,6 miles

de tn, respectivamente (Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI]). Los espárragos son productos internacionalmente comercializados y presentan el mayor porcentaje dentro de las exportaciones de cultivos agrícolas. Estos son exportados principalmente a los Estados Unidos ya sean frescos, en conservas o congelados (SIICEX, 2015). Estos cultivos requieren grandes cantidad de agua dentro de su ciclo productivo. Por otro lado, el cultivo de tomates también es una actividad que se realiza a gran escala, para el año 2016 el promedio de la superficie cosechada fue de 2,3 mil (MINAGRI, 2016).

El cultivo de espárragos y de tomates se ven afectados por plagas como la caracha o *Prodiplosis longifila* Gagné, 1986 y la mancha de peral o *Stemphylium sarciniforme* ((Cavara)

Wiltshire [as 'sarcinaeforme'], 1938) para el caso del espárrago, y mosca blanca o *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (b biotype) y la rancha o *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary para el caso del tomate (SENASA, 2015). Es por eso que se aplican insecticidas y fungicidas como el imidacloprid y el propineb para atacar a estas plagas y enfermedades.

Imidacloprid es un insecticida sistémico neonicotinoide utilizado en una variedad de cultivos. Debido a su actividad potente, se aplica generalmente en plántulas y en raíces de plantas en concentraciones muy bajas (Sánchez-Bayo, 2007). De acuerdo a la Organización mundial de la Salud (OMS) su toxicidad se clasifica como II, Moderadamente peligroso; y de acuerdo a la EPA se clasifica como II, Moderadamente tóxico. Sin embargo, la misma eficacia que aparece con especies plagas afecta a otros artrópodos no objetivos, como las abejas, los depredadores naturales y los invertebrados que viven en ecosistemas agrícolas o sus alrededores (Ruzhong *et al.*, 1999; Sumon *et al.*, 2018). También los estudios sobre mesocosmos, sugieren que la ecología de los ambientes acuáticos se ve disturbada por acción de este plaguicida (Tišler *et al.*, 2009; Berghahn *et al.*, 2012; Sumon *et al.*, 2018).

Propineb es un ditiocarbamato (EFSA, 2016). El propineb es un fungicida polimérico que de acuerdo a la OMS su toxicidad se clasifica como No peligro agudo; y de acuerdo a la EPA se clasifica IV, Sin riesgo de

toxicidad aguda. Sin embargo, existen aspectos negativos relacionados al uso del propineb (EFSA, 2016). Las complicaciones neurológicas, así como los trastornos del movimiento caracterizado por rigidez plástica, contracción muscular y parálisis son los síntomas predominantes en animales y seres humanos (Güven, 1998; Marinovich, 2002). En la última evaluación de la EFSA (2016) del propineb se señala que se necesita más información para abordar el riesgo de los artrópodos no objetivos en el ambiente acuático.

El uso de los plaguicidas ocasiona problemas en el ambiente acuático, y debido a fenómenos de escorrentía son arrastrados hasta llegar a fuentes de agua superficial y subterránea (Ongley, 1997; Choudhury, 2018). En el ecosistema acuático los efectos toxicológicos de los plaguicidas pueden manifestarse de forma distinta al estar en forma individual o en mezcla (Pavlaki *et al.*, 2011).

En el Perú, no se dispone de suficiente información sobre cómo afectan al ambiente los compuestos químicos como los plaguicidas cuando se encuentran en mezcla (Iannacone *et al.*, 2011). Los organismos no destinatarios del control químico pueden ser usados para determinar si existen impactos negativos al emplear plaguicidas en el ambiente (Iannacone *et al.*, 2007ab).

Para los ambientes acuáticos los ensayos con *Daphnia magna* Straus, 1820, son una herramienta valiosa para la clasificación de los efluentes, para las evaluaciones ecotoxicológicas

predictivas, debido a que son de fácil acceso, económico y sobre todo sensibles (Burga, 2006; Chagua-Delgado & Morales-Lavado, 2014; Lee *et al.*, 2019). La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogénica (lo cual asegura una uniformidad de respuesta), y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de toxicidad, a nivel universal (Burga, 2006; Iannacone & Alvarino, 2007; Lee *et al.*, 2019).

Dentro de las herramientas de evaluación se tiene la técnica de Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA) que permite establecer los límites de aceptabilidad de una sustancia química mediante procedimientos científicos basados en la información disponible (Chagua-Delgado & Morales-Lavado, 2014).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el riesgo ambiental acuático de la mezcla de los plaguicidas imidacloprid (insecticida) y propineb (fungicida) sobre *D. magna*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de ejecución: la etapa experimental fue llevada a cabo en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Campus Villa 1 de la Universidad Científica del Sur (UCSUR), Villa El Salvador, Lima, Perú.

Plaguicidas

Imidacloprid N° CAS: 138261-41-3 1- 6-cloro-3-pirinil metil) -N-

nitroimidazolidin -2- ilideneamina, C₉H₁₀ClN₅O₂; PM= 255,7;). Se utilizó la formulación de suspensión concentrada (350 g·L⁻¹ equivalentes de ia), perteneciente al mercado Nacional en Perú (Confidor®). Categoría moderadamente peligroso. Dentro de sus propiedades físicas y químicas presenta una densidad= 1,16 g·cm⁻³ (20°C); solubilidad en agua de 0,6 g·L⁻¹ a 20°C. Las concentraciones (mg·L⁻¹) usadas en el bioensayo individual fueron 22,5; 45; 90; 180 y 360 (FAO, 2013).

Propineb N° CAS: 12071-83-9 1,2-propilenbis (ditiocarbamato) cincico polimérico, (C₅H₈N₂S₄Zn)_x, PM= 289,8). Se utilizó la formulación de polvo mojable (0,007 mg·Kg⁻¹ equivalentes de ia), perteneciente al mercado Nacional en Perú (Antracol®). Categoría Ligeramente peligroso. Dentro de sus propiedades físicas y químicas tiene una densidad= 1,81 g·cm⁻³ (23°C); solubilidad en agua de 0,01 g·L⁻¹ a 20°C. Las concentraciones (mg·L⁻¹) empleadas en el bioensayo individual fueron 1,25; 2,5; 5; 10 y 20 (EFSA, 2016).

Organismo de prueba

Daphnia magna (Iannacone *et al.*, 2007ab): hembras adultas de *D. magna* fueron obtenidas de la Veterinaria Acuario Pet Shop, Barranco, Lima, Perú, y se llevaron al laboratorio de Ingeniería Ambiental de la UCSUR. Se hizo una clasificación taxonómica de *D. magna* de acuerdo a su morfología. Hembras partenogénicas fueron colocadas en un medio de cultivo para dáfidos. Los cultivos masivos de dáfidos fueron alimentados dos veces

por semana con 50 mL de *Chlorella* sp. Beijerinck, 1890 por cada 1 L de agua. Los cultivos masivos se realizaron en envases de plástico de 1 L.

La preparación del medio de cultivo se realizó de la siguiente forma: se obtuvo agua mineral comercial San Mateo®. Una botella de contenido neto de 600 mL tiene contenidos aproximados de agua clasificada como de mineralización media y posee la siguiente composición en mg·L⁻¹: Calcio: 90, Magnesio: 11, Sodio: 32 y Potasio: 6.

El cultivo de *Chlorella* sp. fue proporcionado por el Laboratorio de Biología Marina de la UCSUR. Se utilizó una botella de 7 L que fue lavada con agua destilada. Se procedió a llenarla hasta los 5 L con agua potable declorada y luego se inoculó 500 mL de la microalga. Se colocó en aireación constante y se la dejó en un ambiente de luminosidad permanente.

Los cultivos parciales se mantuvieron a una temperatura, y aireación adecuados; y a un fotoperiodo aproximadamente de 12:12. Un día antes de las pruebas de toxicidad se seleccionó grupos de madres partenogénicas en botellas de 500 mL. Para el desarrollo de la prueba de toxicidad aguda con *D. magna* se utilizó cohortes de neonatos (< 24 h de nacidos).

Parámetros físicos y químicos: haciendo uso de los equipos del laboratorio de la UCSUR (pHmetro, oxímetro y conductímetro) se determinó los parámetros físicos y químicos de temperatura, pH, conductividad eléctrica (CE) y oxígeno

disuelto (OD) pertenecientes a los envases con el agua de dilución.

Bioensayos (Iannacone & Alvarino, 2007; Iannacone *et al.*, 2011).

Individuales: la duración total de la prueba fue de 48 h de exposición para el imidacloprid y propineb. Para la preparación de las diluciones de las muestras se utilizó como medio de dilución agua embotellada (Dureza: 160 a 180 mg·L⁻¹ CaCO₃), sin ningún suplemento. Se empleó un factor de dilución de 0,5. A cada envase de 50 mL se agregó 20 mL de cada una de las concentraciones de las sustancias químicas empleadas, a los que se transfirieron diez neonatos de *D. magna*. Se usó como criterio de mortalidad la carencia de movilidad o la ausencia de ritmo cardiaco a 15 s de observación al microscopio estereoscopio. Antes de efectuar las lecturas se agitaron los envases en forma circular para reactivar el movimiento de los organismos que se encontraban inmóviles en el fondo.

Mezclas: de igual forma que los bioensayos individuales se llevó a cabo el bioensayo de las mezclas binarias equitóxicas del imidacloprid y del propineb sobre *D. magna*, en una serie de concentraciones, con un factor de dilución de 0,5 en la que en cada componente de la mezcla está en la misma fracción de su propia toxicidad individual. En base al resultado de la CL₅₀ de los plaguicidas individuales se determinó las concentraciones más altas a emplear en el ensayo de mezclas binarias equitóxicas.

Diseño experimental y tratamiento de datos: las pruebas de toxicidad aguda para los plaguicidas imidacloprid y propineb en forma individual y en mezcla sobre *D. magna*, se evaluaron en cinco concentraciones más el control, con cuatro repeticiones, en un diseño en bloques completos al azar (DBCA) de 6 x 4. La eficacia de los tratamientos y las repeticiones se evaluaron a través de un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías. Para determinar las diferencias entre tratamientos (concentraciones) y entre las repeticiones se realizó la prueba de Dunnett ($P=0,05$). La CL_{50} (Concentración letal media), NOEC (Concentración a la cual no se observa efecto), y LOEC (Concentración más baja a la cual se observa efecto) se calcularon usando el software estadístico SPSS IBM versión 23,00.

Toxicidad de la mezcla (Iannacone *et al.*, 2011): se empleó la siguiente ecuación: $UT_{mezcla} = [CL_{50} \text{ imidacloprid (mezcla)} / CL_{50} \text{ imidacloprid (individual)}] + [CL_{50} \text{ propineb (mezcla)} / CL_{50} \text{ propineb (individual)}]$. Donde, UT_{mezcla} = Unidades tóxicas totales o suma de la actividad biológica. Para las mezclas binarias de tóxicos se determinó si existen efectos antagónicos ($UT > 1$), aditivos = 1 o sinérgicos ($UT < 1$). Se consideró 1 UT equivalente a la CL_{50} (en $mg \cdot L^{-1}$ ó $\mu g \cdot L^{-1}$) de un insecticida individual cuando es evaluado.

Evaluación del Riesgo Ambiental (ERA): Se empleó para determinar la naturaleza y magnitud de riesgo del imidacloprid y propineb en forma individual y en mezcla equitóxica.

Se emplearon los escenarios más críticos y de mayor exposición. En este estudio se han desarrollado 4 escenarios de exposición para realizar la evaluación de riesgo ambiental. Para construir estos escenarios se tomaron en consideración 2 variables: (1) tipo de cultivo y (2) uso de un factor de seguridad (FS). Los números "1" y "2" indican el tipo de cultivo en el escenario. Y las letras "A" y "B" indican el uso (o no uso) del FS.

Para los escenarios "A", con los resultados de toxicidad aguda y con las Concentraciones Ambientales Previstas (PECs), se determinaron los cocientes de riesgo (CRs). Estos resultados se compararon con el nivel crítico respectivo de 0,5 propuesto por la EPA para ensayos agudos con invertebrados. Donde un CR menor a 0,5 indica la existencia de riesgo ambiental (Iannacone & Alvarino, 2002).

Para los escenarios "B", se evaluó el riesgo ambiental mediante la determinación de los cocientes de riesgo (CRs) a través de la comparación del PEC entre el PNEC (concentración sin efectos previstos), el cual fue estimado utilizando la CL_{50} y dividiéndola entre un FS de 1000. Donde un cociente de riesgo inferior a un 1 representa generalmente un riesgo aceptable, mientras que un cociente superior a un nivel crítico comparativo (LOC) equivalente a 1 se considera preocupante por tratarse de una exposición muy elevada (Planes & Fuchs, 2015).

Concentración Ambiental Prevista (PEC): Se usó el programa GENEEC ("Generic Expected Environmental

Concentration”) versión 2,0 para calcular el PEC. Este procedimiento utiliza un modelo matemático que incorpora las propiedades fisico-químicas de los plaguicidas y estima el PEC a 48 h de exposición. Los parámetros que utiliza el programa por cada plaguicida en estudio fueron los siguientes: tipo de cultivo, número de aplicaciones del pesticida al año, intervalos de aplicación del pesticida, método de aplicación, degradación del pesticida en el suelo-Tiempo de

vida media (días), K_{oc} (Coeficiente de partición agua/suelo), solubilidad del pesticida ($mg \cdot L^{-1}$), hidrólisis (días), fotólisis (días), y metabolismo acuático en condiciones aeróbicas (estable o inestable). Cabe mencionar que el programa GENEEC emplea el coeficiente de partición del equilibrio suelo/agua (K_d); sin embargo, en caso de no tener este valor se puede utilizar el coeficiente de partición del equilibrio (K_{oc}) y la degradación de vida media del plaguicida.

Tabla 1. Valores de entrada para el cálculo de la Concentración Ambiental Prevista (PEC) con GENEEC 2.0 para imidacloprid y propineb en los cultivos de espárragos y tomates.

Datos de entrada	Escenario 1		Escenario 2	
Nombre químico	Imidacloprid	Propineb	Imidacloprid	Propineb
Nombre cultivo	Espárragos	Espárragos	Tomates	Tomates
Tasa de aplicación (kg/ha)	0,2	2	0,4	2
N° máximo de aplicaciones permitidas por año	4 (2 por temporada)	6 (3 por temporada)	4 (2 por temporada)	6 (3 por temporada)
Intervalo entre aplicaciones (días)	7-10	7-10	7-10	7-10
Valor de K_{oc}	225	18	225	18
Vida media en suelo en condiciones aerobias (en días)	191	3	191	3
¿El plaguicida se emplea con agua? (SI o NO)	SI	SI	SI	SI
Método de aplicación:	C: Spray de aire comprimido de (huerto y viñedo)			
Tipo:	B: foliada viñedos			
Introducir el ancho de la zona no-spray (pies) (Si la etiqueta no necesita una zona de no-spray, colocar cero)	0	0	0	0
Introducir la solubilidad (en ppm)	610	10	610	10
Hidrólisis pH 7 (días)	365	1.5	365	1.5
Fotólisis (días)	0,2	0,1	0,2	0,1

Aspectos éticos: Los autores señalan que cumplieron toda la normativa nacional e internacional en ensayos ecotoxicológicos.

RESULTADOS

Parámetros físicos y químicos del agua de dilución

En la Tabla 2 para el imidacloprid, se observó que los valores de pH au-

mentan a medida que las concentraciones incrementan. Para la CE, no se observó una tendencia marcada con relación a la concentración. Para el OD, se observó que aumenta a medida que incrementan las concentraciones. Para la temperatura, se observó una tendencia ligera a disminuir cuando las concentraciones incrementan.

Tabla 2. Parámetros físicos y químicos del ensayo con imidacloprid sobre *Daphnia magna*.

Concentraciones (mg·L ⁻¹ de imidacloprid)	pH	Conductividad eléctrica mS·m ⁻¹	Oxígeno Disuelto (%)	Temperatura (°C)
Control	7,70	751,7	72,9	21,7
22,5	7,68	1042	70,0	21,7
45	7,74	1038	71,4	21,7
90	7,78	1093	71,7	21,6
180	7,72	930,7	74,7	21,6
360	7,89	774	75,2	21,5

En la Tabla 3 para el propineb, se observó que a excepción del control, los valores de pH de las diluciones tienden a disminuir a medida que aumentan las concentraciones. Para la CE y el OD no se observa una tendencia marcada con relación a la concentración. Para la temperatura, se observa una tendencia a disminuir cuando las concentraciones incrementan.

Tabla 3. Parámetros físicos y químicos del ensayo con propineb sobre *Daphnia magna*.

Concentraciones (mg·L ⁻¹ propineb)	pH	Conductividad eléctrica mS·m ⁻¹	Oxígeno Disuelto (%)	Temperatura (°C)
Control	7,70	751,7	72,9	21,7
1,25	7,94	1050	68,6	21,8
2,5	7,78	1187	67,4	22,1
5	7,74	987,7	71,9	22,0
10	7,68	956,5	66,6	21,5
20	7,82	761	70,3	21,4

En la Tabla 4 para la mezcla, se observa que a excepción del control, los valores de pH en las diluciones tienden a disminuir a medida que aumentan las concentraciones de las mezclas. Para la CE y el OD se observa que au-

menta a medida que incrementan las concentraciones. Para la temperatura, se observó una tendencia muy ligera a disminuir a medida que las concentraciones aumentan.

Tabla 4. Parámetros físicos y químicos del ensayo con la mezcla de sobre *Daphnia magna*.

Concentraciones (mg·L ⁻¹ imidacloprid)	Concentraciones (mg·L ⁻¹ propineb)	pH	Conductividad eléctrica mS·m ⁻¹	Oxígeno Disuelto (%)	Temperatura (°C)
Control	Control	7,70	751,7	72,9	21,7
20	0,15	7,72	1011	68,5	21,7
40	0,3	7,77	1043	69,9	21,6
80	0,6	7,72	975,9	71,2	21,5
160	1,2	7,67	1033	80,9	21,4
320	2,4	7,63	1303	79,5	21,3

Bioensayos individuales con *Daphnia magna*

La tabla 5 muestra los valores de toxicidad aguda de los bioensayos individuales en términos de CL₅₀ para *D. magna* a diferentes concentraciones de imidacloprid y propineb en periodos de exposición de 24 h y 48 h. Se observó que existe diferencia significativa entre el control y por lo menos una de las concentraciones de imidacloprid y propineb en los tiempos de exposición de 24 h y 48 h.

A las 24 h de exposición se observa que la concentración más alta de imidacloprid es la única que se diferencia estadísticamente del control. A las 48 h de exposición se observa que a partir de la concentración 180 mg·L⁻¹ de imidacloprid se diferencia

estadísticamente del control. A las 48 h de exposición se determinó que el NOEC y el LOEC fueron mayores en un 50% con respecto a las 24 h. La CL₅₀ fue mayor en un 56,61% con respecto a las 24 h.

A las 24 h de exposición se observa que a partir de la concentración 2,5 mg·L⁻¹ de propineb se diferencia estadísticamente del control. A las 48 h de exposición se observa que a partir de la concentración 1,25 mg·L⁻¹ de propineb se diferencia estadísticamente del control. Para las 48 h de exposición se determinó que el NOEC y el LOEC fueron mayores en un 50% con respecto a las 24 h de exposición. La CL₅₀ fue mayor en un 55,77% con respecto a las 24 h de exposición.

Tabla 5. Porcentaje de mortalidad de *Daphnia magna* al aplicar plaguicida imidacloprid y propineb para 24 y 48 h de exposición.

Concentraciones (mg·L ⁻¹)	24 h	48 h		
Plaguicidas	% de mortalidad	% de mortalidad		
imidacloprid				
Control	0	a	0	a
22,5	0	a	5	a
45	0	a	12,5	a
90	0	a	12,5	a
180	2,5	ab	50	b
360	7,5	b	57,5	b
NOEC (mg·L ⁻¹)	180		90	
LOEC (mg·L ⁻¹)	360		180	
CL ₅₀ (mg·L ⁻¹)	641,14		278,19	
F	4,4		10,98	
Sig.	0,009		0,00	
propineb				
Control	0	a	0	a
1,25	0	a	12,5	b
2,5	35	b	72,5	c
5	80	c	90	d
10	82,5	c	100	d
20	95	c	100	d
NOEC (mg·L ⁻¹)	1,25		0	
LOEC (mg·L ⁻¹)	2,5		1,25	
CL ₅₀ (mg·L ⁻¹)	5,6		2,5	
F	63,82		263,78	
Sig.	0,00		0,00	

CL₅₀ = Concentración letal media, NOEC = concentración a la cual no se observa efecto. LOEC = concentración más baja a la cual se observa efecto. F = Estadístico de Fisher según el análisis de Varianza. Sig. = significancia. Letras minúsculas iguales en una misma columna señalan que los promedios de mortalidad son estadísticamente iguales según la prueba de Dunett (P > 0,05).

En la tabla 6, se muestran los resultados de los bioensayos en mezcla para *D. magna* que se evaluaron en un control y cinco concentraciones de

imidacloprid y propineb en periodos de exposición de 24 y 48 h. A las 24 h de exposición se observa que las concentraciones de la mezcla de

imidacloprid y propineb no se diferencian estadísticamente del control. A las 48 h de exposición se observa que solo la última concentración de la mezcla se diferencia estadísticamente del control. Para las 48 h de exposición la CL₅₀ de imidacloprid y propineb aumentaron 31,89% y 32,17, respectivamente con respecto a las 24 h.

Además al determinar la UT de la

mezcla que es 2,78 se observa que el tipo de interacción según la UT es antagonista. Esto significa que ambos plaguicidas incrementan sus CL₅₀ al interactuar en mezcla. Los valores de las CL₅₀ para imidacloprid y propineb en mezcla para este periodo de tiempo fueron mayores con respecto a las CL₅₀ de las mismas sustancias de forma individual en el mismo periodo de tiempo.

Tabla 6. Porcentaje de mortalidad (o inmovilización) de *Daphnia magna* al aplicar la mezcla de plaguicidas Imidacloprid y Propineb para 24 y 48 h de exposición.

Parámetros	Concentraciones (mg imidacloprid·L ⁻¹)	Concentraciones (mg propineb·L ⁻¹) GG	24 h Porcentaje (%) de mortalidad	48 h Porcentaje (%) de mortalidad
	0	0	0	a 2.5
	20	0,15	0	a 15
	40	0,3	2.5	a 15
	80	0,6	0	a 17,5
	160	1,2	10	a 20
	320,00	2,4	7,5	a 32,5
NOEC (mg·L ⁻¹) imidacloprid			320	160
LOEC (mg·L ⁻¹) imidacloprid			>320	320
CL ₅₀ (mg·L ⁻¹) imidacloprid			616,13	419,63
NOEC (mg·L ⁻¹) propineb			2,4	1,2
LOEC (mg·L ⁻¹) propineb			>2,4	2,4
CL ₅₀ (mg·L ⁻¹) propineb			2,92	3,14
UTMezcla [CL ₅₀ imidacloprid (mezcla)/CL ₅₀ imidacloprid (individual)] + [CL ₅₀ propineb (mezcla)/CL ₅₀ propineb (individual)]			1.48	2,78
% contribución al valor de la toxicidad	imidacloprid		64,80	54,28
	propineb		35,20	45,72
Tipo de interacción según UT			antagónica	antagónica

CL₅₀= Concentración letal media, NOEC= concentración a la cual no se observa efecto, LOEC= concentración más baja a la cual se observa efecto, UT= Unidad Toxica, Interacciones sinérgicas (UT < 1); interacciones antagonistas (UT > 1). Letras minúsculas iguales en una misma columna señalan que los promedios de mortalidad son estadísticamente iguales según la prueba de Dunnett (P > 0,05).

Cálculo de la Concentración Ambiental prevista (PEC) en medio acuático

En la tabla 7, se muestran los

resultados de las PECs calculadas a través del programa GENEEC para el imidacloprid y propineb.

Tabla 7. Concentraciones ambientales previstas (PEC) de los plaguicidas Imidacloprid y Propineb en los cultivos de espárragos y tomates.

Escenario		PEC (mg·L ⁻¹)				
1: Cultivo de espárragos		1 día	4 días	21 días	60 días	90 días
Plaguicidas						
Imidacloprid		31,14	30,35	26,33	19,53	15,91
Propineb		115,29	79,24	22,15	7,77	5,18
Escenario		PEC (mg·L ⁻¹)				
2: Cultivo de tomates		1 día	4 días	21 días	60 días	90 días
Plaguicidas						
Imidacloprid		62,28	60,71	52,67	39,07	31,83
Propineb		144,11	99,05	27,68	9,71	6,48

Evaluación de Riesgo Ambiental

Escenario 1A: Evaluación de riesgo ambiental en cultivo de espárragos sin usar factor de seguridad (FS)

En las tablas 8, 9 y 10, se muestra un resumen de la evaluación del riesgo ambiental (ERA) de imidacloprid y propineb, individualmente y en mezcla, sobre *D. magna* tomando en cuenta un escenario de aplicación a un cultivo de espárragos. Se determinó el cociente de riesgo (CR) en base a una CL₅₀ de 24 h y 48 h, y una PEC de 1 a 90 días. Este cociente fue comparado con un nivel crítico (LOC) de 0,5.

En la tabla 8, imidacloprid no mostró riesgo ambiental sobre *D. magna* al compararlo con el nivel crítico en los diferentes tiempos de las Concentraciones ambientales previstas (PEC). Sin embargo, en la tabla 9 se muestra que propineb

sí representó un riesgo a nivel del ambiente acuático ya que su CR fue más alto que el nivel crítico. En la tabla 10, se determinó que imidacloprid en mezcla no representó un riesgo ambiental sobre *D. magna*. Sin embargo, propineb en mezcla sí representó un riesgo a nivel del ambiente acuático.

Escenario 1B: Evaluación de riesgo ambiental en cultivo de espárragos usando un factor de seguridad (FS)

En las tablas 11, 12 y 13, se muestra un resumen de la evaluación del riesgo ambiental (ERA) de imidacloprid y propineb, individualmente y en mezcla, sobre *D. magna* tomando en cuenta un escenario de aplicación a un cultivo de espárragos y haciendo uso de un factor de seguridad (para el cálculo de la PNEC). Se determinó el

cociente de riesgo (CR) en base al PNEC y al PEC. Este cociente fue comparado con un nivel crítico (LOC) de 1.

En la tabla 11, imidacloprid mostró riesgo ambiental sobre *D. magna* al compararlo con el nivel crítico en los diferentes tiempos de las PEC. Sin embargo, en la Tabla 12 se muestra que propineb sí represento un riesgo a nivel del ambiente acuático, ya que su CR fue más alto que el nivel crítico. En la tabla 13, se determinó que imidacloprid y propineb en mezcla representan un riesgo para el ambiente acuático.

Escenario 2A y 2B: Evaluación de riesgo ambiental en cultivo de tomates sin hacer uso de FS y haciendo uso de FS

En las tablas 14 al 19, se muestra un resumen de la evaluación del riesgo ambiental (ERA) de imidacloprid y propineb, individualmente y en mezcla, sobre *D. magna* tomando en cuenta un escenario de aplicación

a un cultivo de tomates, y además haciendo uso de un FS.

La ERA mostró resultados similares a los del escenario del cultivo de espárragos; sin embargo, los CR son más altos en este escenario dado que las variables correspondientes a las dosis de aplicación son mayores.

Se observó que imidacloprid no representó riesgo en mezcla, ni individualmente. Sin embargo, al aplicarle un FS si representó un riesgo individualmente. Por otro lado, propineb representó un riesgo al ambiente, sin aplicar y aplicando el factor de seguridad.

Al igual que en el escenario 1B, al hacer uso del FS se determinó que imidacloprid y propineb en mezcla representan un riesgo para el ambiente acuático. Es importante resaltar que en todos los escenarios de exposición se observó que el PEC disminuye a medida que aumentan los tiempos de exposición.

Tabla 8. Determinación de Riesgo Ambiental de imidacloprid empleando *Daphnia magna* en cultivo de espárragos sin usar FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
641,14	1 día	31,14	0,05	0,5	NO
641,14	4 días	30,35	0,05	0,5	NO
641,14	21 días	26,33	0,04	0,5	NO
641,14	60 días	19,53	0,03	0,5	NO
641,14	90 días	15,91	0,02	0,5	NO
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
278,19	1 día	31,14	0,11	0,5	NO
278,19	4 días	30,35	0,11	0,5	NO
278,19	21 días	26,33	0,09	0,5	NO
278,19	60 días	19,53	0,07	0,5	NO
278,19	90 días	15,91	0,06	0,5	NO

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. LOC = nivel crítico.

Tabla 9. Determinación de Riesgo Ambiental de propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de espárragos sin usar FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
5,60	1 día	115,29	20,59	0,5	SI
5,60	4 días	79,24	14,15	0,5	SI
5,60	21 días	22,15	3,95	0,5	SI
5,60	60 días	7,77	1,39	0,5	SI
5,60	90 días	5,18	0,92	0,5	SI
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
2,48	1 día	115,29	46,55	0,50	SI
2,48	4 días	79,24	31,99	0,50	SI
2,48	21 días	22,15	8,94	0,50	SI
2,48	60 días	7,77	3,14	0,50	SI
2,48	90 días	5,18	2,09	0,50	SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/Toxicidad. LOC = nivel crítico.

Tabla 10. Determinación de Riesgo Ambiental para la Mezcla de imidacloprid y propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de espárragos sin usar FS (Factor de Seguridad).

Plaguicida	CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo
Imidacloprid	616,13	1 día	31,14	0,5	NO
Propineb	4,64		115,29		24,85
Imidacloprid	616,13	4 días	30,35	0,5	NO
Propineb	4,64		79,24		17,08
Imidacloprid	616,13	21 días	26,33	0,5	NO
Propineb	4,64		22,15		4,77
Imidacloprid	616,13	60 días	19,53	0,5	NO
Propineb	4,64		7,77		1,67
Imidacloprid	616,13	90 días	15,91	0,5	NO
Propineb	4,64		5,18		1,12
Plaguicida	CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	RQ	LOC	Riesgo
Imidacloprid	419,63	1 día	31,14	0,5	NO
Propineb	3,1472		115,29		36,63
Imidacloprid	419,63	4 días	30,35	0,5	NO
Propineb	3,1472		79,24		25,18
Imidacloprid	419,63	21 días	26,33	0,5	NO
Propineb	3,1472		22,15		7,04

Continúa Tabla 10

Continúa Tabla 10

Imidacloprid	419,63		19,53	0,05		
Propineb	3,1472	60 días	7,77	2,47	0,5	NO
Imidacloprid	419,63		15,91	0,04		SI
Propineb	3,1472	90 días	5,18	1,65	0,5	NO
						SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. LOC = nivel crítico.

Tabla 11. Determinación de Riesgo Ambiental de imidacloprid empleando *Daphnia magna* en cultivo de espárragos y usando FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo
641,14	1 día	31,14	0,64	48,57	1,00	SI
641,14	4 días	30,35	0,64	47,34	1,00	SI
641,14	21 días	26,33	0,64	41,07	1,00	SI
641,14	60 días	19,53	0,64	30,46	1,00	SI
641,14	90 días	15,91	0,64	24,82	1,00	SI
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo
278,19	1 día	31,14	0,28	111,94	1,00	SI
278,19	4 días	30,35	0,28	109,10	1,00	SI
278,19	21 días	26,33	0,28	94,65	1,00	SI
278,19	60 días	19,53	0,28	70,20	1,00	SI
278,19	90 días	15,91	0,28	57,19	1,00	SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. Factor de seguridad = 1000 para CL₅₀. LOC = nivel crítico.

Tabla 12. Determinación de Riesgo Ambiental de propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de espárragos y usando FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo
5,60	1 día	115,29	0,01	20585,29	1,00	SI
5,60	4 días	79,24	0,01	14148,48	1,00	SI
5,60	21 días	22,15	0,01	3954,93	1,00	SI
5,60	60 días	7,77	0,01	1387,35	1,00	SI
5,60	90 días	5,18	0,01	924,90	1,00	SI

Continúa Tabla 12

Continúa Tabla 12

CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
2,48	1 día	115,29	0,02	4654,61	1,00	SI
2,48	4 días	79,24	0,02	3199,16	1,00	SI
2,48	21 días	22,15	0,02	894,26	1,00	SI
2,48	60 días	7,77	0,02	313,70	1,00	SI
2,48	90 días	5,18	0,02	209,13	1,00	SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. Factor de seguridad = 1000 para CL₅₀. LOC = nivel crítico.

Tabla 13. Determinación de Riesgo Ambiental de la mezcla imidacloprid y propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de espárragos y usando FS (Factor de Seguridad).

Plaguicida	CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
Imidacloprid	616,13	1 día	31,14	0,62	50,54	1,00	SI
Propineb	4,64		115,29	0,00	24846,98		SI
Imidacloprid	616,13	4 días	30,35	0,62	49,26	1,00	SI
Propineb	4,64		79,24	0,00	17077,59		SI
Imidacloprid	616,13	21 días	26,33	0,62	42,73	1,00	SI
Propineb	4,64		22,15	0,00	4773,71		SI
Imidacloprid	616,13	60 días	19,53	0,62	31,70	1,00	SI
Propineb	4,64		7,77	0,00	1674,57		SI
Imidacloprid	616,13	90 días	15,91	0,62	25,82	1,00	SI
Propineb	4,64		5,18	0,00	1116,38		SI
Plaguicida	CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
Imidacloprid	419,63	1 día	31,14	0,42	74,21	1,00	SI
Propineb	3,1472		115,29	0,00	36632,56		SI
Imidacloprid	419,63	4 días	30,35	0,42	72,33	1,00	SI
Propineb	3,1472		79,24	0,00	25177,94		SI
Imidacloprid	419,63	21 días	26,33	0,42	62,75	1,00	SI
Propineb	3,1472		22,15	0,00	7038,00		SI
Imidacloprid	419,63	60 días	19,53	0,42	46,54	1,00	SI
Propineb	3,1472		7,77	0,00	2468,86		SI
Imidacloprid	419,63	90 días	15,91	0,42	37,91	1,00	SI
Propineb	3,1472		5,18	0,00	1645,91		SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. Factor de seguridad = 1000 para CL₅₀. LOC = nivel crítico.

Tabla 14. Determinación de Riesgo Ambiental de imidacloprid empleando *Daphnia magna* en cultivo de tomates sin usar FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
641,14	1 día	62,28	0,10	0,5	NO
641,14	4 días	60,71	0,09	0,5	NO
641,14	21 días	52,67	0,08	0,5	NO
641,14	60 días	39,07	0,06	0,5	NO
641,14	90 días	31,83	0,05	0,5	NO
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
278,19	1 día	62,28	0,22	0,5	NO
278,19	4 días	60,71	0,22	0,5	NO
278,19	21 días	52,67	0,19	0,5	NO
278,19	60 días	39,07	0,14	0,5	NO
278,19	90 días	31,83	0,11	0,5	NO

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. LOC = nivel crítico.

Tabla 15. Determinación de Riesgo Ambiental de Propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de tomates sin usar FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
5,60	1 día	144,11	25,73	0,5	SI
5,60	4 días	99,05	17,69	0,5	SI
5,60	21 días	27,68	4,94	0,5	SI
5,60	60 días	9,71	1,73	0,5	SI
5,60	90 días	6,48	1,16	0,5	SI
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo	
2,48	1 día	144,11	58,18	0,50	SI
2,48	4 días	99,05	39,99	0,50	SI
2,48	21 días	27,68	11,18	0,50	SI
2,48	60 días	9,71	3,92	0,50	SI
2,48	90 días	6,48	2,62	0,50	SI

Exposición = PEC= Concentración Ambiental prevista. CR= cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. LOC= nivel crítico.

Tabla 16. Determinación de Riesgo Ambiental de la mezcla imidacloprid y propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de tomates sin usar FS (Factor de Seguridad).

Plaguicida	CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	CR	LOC	Riesgo
Imidacloprid	616,13	1 día	62,28	0,10	0,5	NO
Propineb	4,64		144,11	31,06		SI
Imidacloprid	616,13	4 días	60,71	0,10	0,5	NO
Propineb	4,64		99,05	21,35		SI
Imidacloprid	616,13	21 días	52,67	0,09	0,5	NO
Propineb	4,64		27,68	5,97		SI
Imidacloprid	616,13	60 días	39,07	0,06	0,5	NO
Propineb	4,64		9,71	2,09		SI
Imidacloprid	616,13	90 días	31,83	0,05	0,5	NO
Propineb	4,64		6,48	1,40		SI
Plaguicida	CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	RQ	LOC	Riesgo
Imidacloprid	419,63	1 día	62,28	0,15	0,5	NO
Propineb	3,1472		144,11	45,79		SI
Imidacloprid	419,63	4 días	60,71	0,14	0,5	NO
Propineb	3,1472		99,05	31,47		SI
Imidacloprid	419,63	21 días	52,67	0,13	0,5	NO
Propineb	3,1472		27,68	8,80		SI
Imidacloprid	419,63	60 días	39,07	0,09	0,5	NO
Propineb	3,1472		9,71	3,09		SI
Imidacloprid	419,63	90 días	31,83	0,08	0,5	NO
Propineb	3,1472		6,48	2,06		SI

Exposición = PEC= Concentración Ambiental prevista. CR= cociente de riesgo = Exposición/Toxicidad. LOC= nivel crítico. LOC= nivel crítico.

Tabla 17. Determinación de Riesgo Ambiental de imidacloprid empleando *Daphnia magna* en cultivo de tomates y usando FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
641,14	1 día	62,28	0,64	97,14	1,00	SI
641,14	4 días	60,71	0,64	94,69	1,00	SI
641,14	21 días	52,67	0,64	82,15	1,00	SI
641,14	60 días	39,07	0,64	60,94	1,00	SI
641,14	90 días	31,83	0,64	49,65	1,00	SI
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
278,19	1 día	62,28	0,28	223,88	1,00	SI
278,19	4 días	60,71	0,28	218,23	1,00	SI
278,19	21 días	52,67	0,28	189,33	1,00	SI
278,19	60 días	39,07	0,28	140,44	1,00	SI
278,19	90 días	31,83	0,28	114,42	1,00	SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/Toxicidad. Factor de seguridad = 1000 para CL₅₀. LOC = nivel crítico.

Tabla 18. Determinación de Riesgo Ambiental de propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de tomates y usando FS (Factor de Seguridad).

CL ₅₀ 24 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
5,60	1 día	144,11	0,01	25731,17	1,00	SI
5,60	4 días	99,05	0,01	17685,61	1,00	SI
5,60	21 días	27,68	0,01	4942,33	1,00	SI
5,60	60 días	9,71	0,01	1733,74	1,00	SI
5,60	90 días	6,48	0,01	1157,02	1,00	SI
CL ₅₀ 48 h (mg·L ⁻¹)	PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo	
2,48	1 día	144,11	0,02	5818,16	1,00	SI
2,48	4 días	99,05	0,02	3998,95	1,00	SI
2,48	21 días	27,68	0,02	1117,53	1,00	SI
2,48	60 días	9,71	0,02	392,02	1,00	SI
2,48	90 días	6,48	0,02	261,62	1,00	SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/Toxicidad. Factor de seguridad = 1000 para CL₅₀. LOC = nivel crítico.

Tabla 19. Determinación de **Riesgo Ambiental** de la mezcla imidacloprid y propineb empleando *Daphnia magna* en cultivo de tomates y usando FS(Factor de Seguridad).

Plaguicida	CL ⁵⁰ 24 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo
Imidacloprid	616,13	1 día	62,28	0,62	101,08	1,00	SI
Propineb	4,64		144,11	0,00	31058,19		SI
Imidacloprid	616,13	4 días	60,71	0,62	98,53	1,00	SI
Propineb	4,64		99,05	0,00	21346,98		SI
Imidacloprid	616,13	21 días	52,67	0,62	85,49	1,00	SI
Propineb	4,64		27,68	0,00	5965,52		SI
Imidacloprid	616,13	60 días	39,07	0,62	63,41	1,00	SI
Propineb	4,64		9,71	0,00	2092,67		SI
Imidacloprid	616,13	90 días	31,83	0,62	51,66	1,00	SI
Propineb	4,64		6,48	0,00	1396,55		SI
Plaguicida	CL ⁵⁰ 48 h (mg·L ⁻¹)		PEC (mg·L ⁻¹)	PNEC	CR	LOC	Riesgo
Imidacloprid	419,63	1 día	62,28	0,42	148,42	1,00	SI
Propineb	3,1472		144,11	0,00	45789,91		SI
Imidacloprid	419,63	4 días	60,71	0,42	144,68	1,00	SI
Propineb	3,1472		99,05	0,00	31472,42		SI
Imidacloprid	419,63	21 días	52,67	0,42	125,52	1,00	SI
Propineb	3,1472		27,68	0,00	8795,12		SI
Imidacloprid	419,63	60 días	39,07	0,42	93,11	1,00	SI
Propineb	3,1472		9,71	0,00	3085,28		SI
Imidacloprid	419,63	90 días	31,83	0,42	75,85	1,00	SI
Propineb	3,1472		6,48	0,00	2058,97		SI

Exposición = PEC = Concentración Ambiental prevista. CR = cociente de riesgo = Exposición/ Toxicidad. Factor de seguridad = 1000 para CL50. LOC= nivel crítico.

DISCUSIÓN

Bioensayos

Daphnia magna es una especie importante para la evaluación de riesgos ambientales en los ecosistemas acuáticos (Valera *et al.*, 2018; Lee *et al.*, 2019; Micheletto *et al.*, 2019). Una de las razones por la que *D. magna* es utilizada como bioindicador ambiental radica en su tipo de reproducción, que presenta dos fases, sexual y asexual (Manrique-Guillén *et al.*, 2018; Micheletto *et al.*, 2019). Si encuentra condiciones favorables mantiene la fase asexual conocida como partenogénesis, lo que nos permitiría trabajar con poblaciones genéticamente uniformes (Lee *et al.*, 2019).

En los ensayos individuales sobre *D. magna*, el imidacloprid resultó ser menos tóxico que el propineb. Para el ensayo individual de imidacloprid, el valor de CL_{50} a 48 h fue 278,19 $mg \cdot L^{-1}$, muy similar al que se registra en la ficha técnica (242 $mg \cdot L^{-1}$). Sin embargo, otras investigaciones sobre *D. magna* muestran valores menores de CL_{50} . FAO (2018) muestra un valor de CE_{50} (Concentración efectiva media) de 85 $mg \cdot L^{-1}$ a 48 h a una temperatura de 20 °C y a una pureza de 95,4%. Sánchez-Bayo (2006) obtuvo una CE_{50} de 72 $mg \cdot L^{-1}$ en el ensayo de toxicidad realizado sobre *D. magna* con imidacloprid. Tišler *et al.* (2009) observó un valor menor de CL_{50} para el imidacloprid de 56,6 $mg \cdot L^{-1}$.

Se puede sugerir que las diferencias obtenidas en los diferentes estudios en relación a los valores de CL_{50} o CE_{50} del imidacloprid sobre *D. magna*

se podrían deber al grado de pureza de la sustancia (Tišler *et al.*, 2009). Así, el contenido de imidacloprid para la presente investigación fue de 70% del total del producto utilizado. Otro factor según Jeromina *et al.* (2014) que evaluaron el impacto del imidacloprid en *D. magna* bajo diferentes regímenes de alimentación concluyen que niveles deficientes de alimentación originan mayor sensibilidad ante la exposición a plaguicidas. En base a esto, se podría sugerir que los resultados obtenidos sobre la CL_{50} para el plaguicida imidacloprid utilizado en este estudio, varían con respecto otras investigaciones debido al tipo de alimentación al cual fueron sometidos los organismos de prueba durante su periodo de cultivo.

El propineb presentó una alta toxicidad sobre *D. magna* ($CL_{50} = 2,48 mg \cdot L^{-1}$). El valor de CL_{50} a 48 h que se obtuvo es similar al de la ficha técnica del producto, el cual fue de 4,7 $mg \cdot L^{-1}$ y a otro estudio en el cual al CE_{50} a 48 h tuvo un valor de 1,5 $mg \cdot L^{-1}$. Además, en un ensayo de toxicidad crónica de 21 días el valor del NOEC fue de 0,015 $mg \cdot L^{-1}$ (UH, 2018). En otro estudio de toxicidad crónica de 21 días realizado en *D. magna* el valor del NOEC fue de 0,026 $mg \cdot L^{-1}$ (Jemec *et al.*, 2007).

Los estudios realizados con propineb en *D. magna* son escasos. Propineb junto con mancozeb forman parte de la familia química de ditiocarbamatos, los cuales son ampliamente usados en la agricultura debido a sus propiedades como fungicidas de amplio espectro (Guerrero & Velandia, 2013). Dentro de esta familia de ditiocarbamatos

también se encuentran zineb, maneb y nabam. De acuerdo a estudios realizados en *D. magna* y recopilados a través de la base de datos de UH (2018) las CL_{50} a 48 h registradas para los fungicidas mancozeb, zineb, maneb y nabam en ensayos de toxicidad aguda, respectivamente, fueron de $0,073 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $0,0021 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $0,0056 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Aunque estos valores no son exactamente del químico sometido a evaluación en el presente estudio, nos proporcionan un marco de referencia para tratar de entender los efectos ecotoxicológicos que tienen compuestos químicos de similares características sobre la pulga de agua, *D. magna*. También es importante mencionar que en cada estudio se utilizaron distintos tipos de formulación del producto (UH, 2018). La formulación del plaguicida puede ser un factor que afecte la CL_{50} en *D. magna*.

En el ensayo de la mezcla de ambos plaguicidas sobre *D. magna*, imidacloprid y propineb resultaron tener un efecto antagónico al interactuar el uno con el otro. Demostrando tener menor toxicidad que en los ensayos individuales con los mismos químicos. El valor de CL_{50} a 48 h del imidacloprid, en mezcla, es numéricamente mayor que el valor obtenido en el ensayo individual. Lo mismo ocurre con el valor de CL_{50} de propineb, ya que individualmente es más tóxico que en mezcla. Esto es debido a que existe un efecto antagónico entre ambos plaguicidas, lo que hace que las CL_{50s} cambien al estar en mezcla. Además, según

muestran los resultados, imidacloprid fue el que contribuyó más a la toxicidad de la mezcla.

Cabe mencionar que en otros estudios imidacloprid ha demostrado tener un comportamiento sinérgico o antagónico cuando se encuentra en mezcla con otros plaguicidas. Pavlaki *et al.* (2011) investigaron la respuesta aguda y subletal de *D. magna* expuesta a cuatro compuestos químicos (imidacloprid, tiacloprid, cloruro de níquel, y clorpirifos) individualmente y a tres combinaciones binarias. Imidacloprid y tiacloprid fueron sinérgicos en la prueba de toxicidad aguda, y antagónicos en la prueba de toxicidad crónica, mientras que imidacloprid y clorpirifos fueron antagónicos en ambas pruebas.

Pavlaki *et al.* (2011) evaluaron en *D. magna*, la mezcla binaria de imidacloprid con tiacloprid, e imidacloprid con cloruro de níquel. Se estudiaron los parámetros de reproducción, supervivencia y longitud de cuerpo para *D. magna*. Individualmente se observó que el más tóxico fue el cloruro de níquel seguido por tiacloprid e imidacloprid. Las mezclas el imidacloprid y tiacloprid mostraron sinergismo.

La disminución de la toxicidad en ambos plaguicidas puede ser atribuida a las concentraciones probadas en el presente estudio. Debido a que se realizaron mezclas binarias equitóxicas de imidacloprid y propineb sobre *D. magna*, en una serie de concentraciones, con un factor de dilución de 0,5, en la que en cada componente de la mezcla está en la

misma fracción de su propia toxicidad individual. Sin embargo, en futuros estudios se podrían hacer ensayos con mezclas heterotóxicas de las mismas sustancias, y corroborar si aún se observa el antagonismo de las mezclas de ambos plaguicidas.

Otra posible explicación la variabilidad de resultados en comparación con otros estudios son los cambios de los parámetros fisicoquímicos en el agua, como por ejemplo, la luz. Sánchez-Bayo (2006) evaluó la toxicidad del imidacloprid bajo condiciones diversas de luz y oscuridad, y observó que en condiciones de luz los valores de CE_{50} y CL_{50} son mayores que en condiciones de oscuridad.

En otro estudio de plaguicidas en mezclas, Pike *et al.* (1993) estudiaron al imidacloprid en combinación con fungicidas y demostraron que no existen problemas de compatibilidad en la acción de ambos insecticidas. De acuerdo a Iannacone & Tejada (2007), la toxicidad de los plaguicidas, como imidacloprid y propineb, es dependiente de la duración, intensidad de exposición, formulación y susceptibilidad del organismo evaluado.

En general *D. magna* fue más sensible al propineb, La diferencia encontrada podría deberse a que se emplearon formulaciones de imidacloprid y propineb comerciales, en contraste, Herbrandson *et al.* (2003) usaron productos grado técnico. Imidacloprid y propineb empleados en esta investigación fueron productos formulados, y por lo tanto el vehículo o inerte pudo haber contribuido de forma significativa a la toxicidad del

producto usado. Es por eso que, en otro estudio, su efecto debería ser analizado por separado (Tišler *et al.*, 2009).

Evaluación de riesgo ambiental

Para la evaluación de riesgo ambiental, la comparación de las CL_{50} y la PNEC (calculada a través de uso de un factor de seguridad) del imidacloprid y el propineb y la mezcla de ambos con PEC en 5 periodos de exposición (1, 4, 21, 60 y 90 días) en *D. magna* es adecuada para una mejor perspectiva del comportamiento de estos dos plaguicidas a través del tiempo.

Para el imidacloprid, los resultados obtenidos durante la evaluación de riesgo ambiental, sin hacer uso de un factor de seguridad, mostraron que no existe ningún riesgo ambiental acuático asociado a su uso, tanto para el escenario de cultivo de espárragos como para el escenario de cultivo de tomates. Sin embargo, al aplicar un FS se determinó que sí existe un riesgo ambiental acuático asociado al uso del imidacloprid, en ambos escenarios. Esto podría explicarse por la toxicidad de este plaguicida en insectos. Imidacloprid tienen un mecanismo de acción que afecta al sistema nervioso (Sumon *et al.*, 2018). Además, la misma eficacia con la que actúa también afecta a otros artrópodos no objetivos, y a los invertebrados que viven en ecosistemas agrícolas o sus alrededores (Ruzhong *et al.*, 1999). En otro estudio llevado a cabo por Song *et al.* (2016) concluyeron que existe una mayor correlación de susceptibilidad entre organismos taxonómicamente

próximos que entre organismos que comparten el mismo hábitat.

En un estudio realizado por MAVDT (2008) para el imidacloprid a $0,7 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$, que contiene $350 \text{ g de ia}\cdot\text{L}^{-1}$, equivalente a $0,245 \text{ kg de ia}\cdot\text{ha}^{-1}$, con un PEC que utiliza la fórmula del Manual Técnico Andino, y una escorrentía del 2%. Se determinó que no existe riesgo ambiental ya que los coeficientes de riesgo (CRs) en las tres especies indicadoras utilizadas, trucha arco iris, *D. magna* y *Scenedesmus subspicatus* Chodat 1926, resultaron ser menores que el nivel crítico propuesto (0,1).

Para propineb, los resultados obtenidos durante la ERA, sin hacer uso de un FS, y también al aplicar un FS, mostraron que existe un riesgo ambiental acuático asociado al uso de propineb en ambos escenarios simulados (cultivo de espárragos y cultivo de tomates).

Este resultado se podría explicar debido a que el propineb pertenece a la familia de ditiocarbamatos, los cuales son sustancias químicas de amplio espectro (Aktar *et al.*, 2009). Además, existen aspectos negativos relacionados al uso del propineb que se manifiestan en animales y seres humanos expuestos crónicamente (Güven, 1998; Marinovich, 2002).

En un estudio realizado por MAVDT (2008) determinó para propineb que no existe riesgo ambiental, ya que los CRs en las tres especies indicadoras utilizadas, trucha arco iris, *D. magna* y *S. subspicatus*, resultaron ser menores que el nivel crítico propuesto (0,1).

A pesar que el imidacloprid y el propineb demostraron tener una relación antagonica al interactuar en mezcla, la ERA, haciendo uso del FS, demostró que ambas sustancias representan un riesgo para el ambiente acuático. Sin embargo, al no aplicar el FS, el imidacloprid no representó un riesgo, pero el propineb sí. Es por eso que el uso de un FS al realizar un ERA, es importante ya que este factor permite la extrapolación de los datos experimentales de las pruebas de toxicidad a los efectos del ecosistema (Sotelo & Iannacone, 2019).

En un estudio realizado por Key *et al.* (2007) sobre la toxicidad de tres pesticidas (atrazina, fipronil e imidacloprid), de forma individual y en mezcla, en larvas de *Palaemonetes pugio* Holthuis, 1949, los resultados mostraron que fipronil es el más tóxico. Los organismos fueron menos sensibles al imidacloprid. La atrazina no fue tóxica hasta concentraciones de $10\ 000 \text{ ug}\cdot\text{L}^{-1}$. En mezcla se mostró un aumento significativo en la toxicidad cuando la mezcla de fipronil/imidacloprid se juntó con atrazina.

Jemec *et al.* (2007) en un estudio comparativo de toxicidad del imidacloprid en diferentes formulaciones en *D. magna*, concluyeron que el imidacloprid en el ambiente acuático afectaría crónicamente más a organismos menos sensibles como *D. magna* y agudamente a otros organismos acuáticos invertebrados. Los datos de toxicidad mostraron que el imidacloprid es altamente específico con la especie evaluada, por eso es necesario desarrollar otros estudios ecotoxicológicos con or-

ganismos pertenecientes a otros grupos taxonómicos, y diferentes niveles de la cadena trófica y hábitats acuáticos.

La ERA de un solo químico y de una sola aplicación podría subestimar el impacto en los ambientes acuáticos y terrestres, donde las mezclas de múltiples agroquímicos estresores y varias aplicaciones de plaguicidas han sido comúnmente registradas, produciendo cambios bioquímicos, fisiológicos y en el comportamiento de las especies (Golombieski *et al*, 2008).

La evaluación de riesgo ambiental realizada mediante el método de CR indicó que no existe riesgo para el imidacloprid, en mezcla, sobre *D. magna* en el medio acuático, debido a que el CR obtenido no sobrepasó el nivel crítico de comparación de 0,5. Sin embargo, al aplicar el FS, que extrapola los datos obtenidos en laboratorio a los efectos en el ecosistema, se concluyó que existe riesgo ambiental en el medio acuático ya que los CR en todos los tiempos de exposición evaluados superaron el nivel crítico.

La ERA realizada mediante el método de cociente de riesgo indicó que existe riesgo para propineb, en mezcla, sobre *D. magna* en el medio acuático debido a que el CR obtenido sobrepasó el nivel crítico equivalente a 0,5. La evaluación de riesgo haciendo uso de un FS mostró, también, que sí existe riesgo en el medio acuático ya que los coeficientes de riesgo en todos los tiempos de exposición evaluados superaron el nivel crítico.

Teniendo en cuenta escenarios

conservadores haciendo uso de un factor de seguridad, se pudo concluir que imidacloprid y propineb, en mezcla, representan un riesgo para el medio acuático. Los resultados de la evaluación de riesgo fueron similares, tanto para la simulación en el cultivo de espárragos, como en el cultivo de tomates. Sin embargo, los CR son más altos en la simulación en cultivo de tomates dado que las variables correspondientes a las dosis de aplicación son mayores.

Tanto para las simulaciones en el cultivo de espárragos, como para las simulaciones en cultivo de tomates, se observó que a medida que el tiempo aumenta la concentración ambiental esperada disminuye. Esta disminución es más rápida para el propineb.

La evaluación de riesgo ambiental (ERA) realizada mediante el método de cociente de riesgo indicó que no existe riesgo para el imidacloprid, individualmente, sobre *D. magna* en el medio acuático ya que el cociente de riesgo obtenido no sobrepasó el nivel crítico. Sin embargo, al aplicar el FS, que extrapola los datos obtenidos en laboratorio a los efectos en el ecosistema, se concluyó que existe riesgo ambiental en el medio acuático, ya que los CR en todos los tiempos de exposición evaluados superaron el nivel crítico. Los CR son más altos en la simulación en cultivo de tomates dado que las variables correspondientes a las dosis de aplicación son mayores.

La ERA realizada mediante el método de CR indicó que sí existe riesgo para el propineb, en mezcla, sobre *D. magna* en el medio acuático

ya que el CR obtenido sobrepasó el nivel crítico. La evaluación de riesgo haciendo uso de un FS mostró que existe riesgo en el medio acuático ya que los CR en todos los tiempos de exposición evaluados superaron el nivel crítico.

Al evaluar el insecticida imidacloprid, individualmente, se pudo demostrar que tuvo un efecto tóxico letal (mortalidad e inmovilización) sobre *D. magna*, siendo el valor de la CL_{50} de $641,14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 24 h, y $278,19 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 48 h de exposición. Además, el efecto tóxico (mortalidad e inmovilización) fue mayor a medida que las concentraciones usadas incrementaron y el tiempo de exposición aumentó.

Al evaluar el fungicida propineb, individualmente, se pudo demostrar que tuvo un efecto tóxico letal (mortalidad e inmovilización) sobre *D. magna*, siendo el valor de la CL_{50} fue de $5,6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 24 h, y $2,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 48 h de exposición. Además, el efecto tóxico (mortalidad e inmovilización) fue mayor a medida que las concentraciones usadas incrementaron y el tiempo de exposición aumentó.

Al comparar los efectos de los dos plaguicidas individualmente sobre *D. magna*, se concluyó que propineb es más perjudicial, ya que presentó un mayor efecto tóxico (mortalidad e inmovilización) que el producido por el imidacloprid.

Al evaluar imidacloprid, en mezcla, se demostró que tuvo efecto tóxico letal (mortalidad e inmovilización) sobre *D. magna*, siendo el valor de CL_{50} de $613,13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 24 h, y $419,63 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 48 h de exposición. Al evaluar el fungicida propineb, en mezcla, se demostró un efecto tóxico letal (mortalidad e inmovilización) sobre *D. magna*, siendo el valor de CL_{50} de $4,64 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 24 h, y $3,14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para las 48 h de exposición.

Además, se concluyó que el propineb, en mezcla, es más perjudicial, ya que presentó valores de CL_{50} más bajos en ambos tiempos de exposición. Asimismo, se comprobó que existe un efecto antagónico entre ambos plaguicidas, debido a que presentaron menor toxicidad cuando se encontraban en mezcla que cuando se analizaron cada uno en forma individual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aktar, M.W.; Paramasivam, M. & Sengupta, D. 2009. Persistence and dissipation of Propineb-A dithiocarbamate fungicide in potato under East-Indian climatic conditions. *The Kasetsart journal (Natural sciences)*, 43: 50-55.
- Berghahn, R.M.W. 2012. Effects of repeated insecticide pulses on macroinvertebrate drift in indoor stream mesocosms. *Aquatic Toxicology*, 122: 56-66.
- Burga, K. 2006. *Evaluación toxicológica de los insecticidas metamidofos y clorpirifos en ensayos con Daphnia magna y Porcellio laevis*. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Ciencias, Lima (Perú).
- Chagua-Delgado, E., & Morales-Lavado, L. 2014. *Análisis ecotoxicológico del efluente de desecale en bioensayos con Daphnia magna, Lactuca sativa y Chlorella vulgaris*. Trabajo de titulación, Universidad Nacional Agraria, Ciclo Optativo de Profesionalización en Gestión de Calidad y Auditoría Ambiental, La Molina, Lima (Perú).
- Choudhury, N. 2018. Ecotoxicology of aquatic system: A review on fungicide induced toxicity in fishes. *Progress in Aqua Farming and Marine Biology*, 1: 180001.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2016. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance propineb. *EFSA Journal*, 14: 4605.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2013. *FAO specifications and evaluations for agricultural pesticides. Imidacloprid. (E)-1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine*. 57 p. En: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Imidacloprid_2013.pdf
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2018. *FAO specifications and evaluations for agricultural pesticides. Imidacloprid. (E)-1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine*. 72 p. Imidacloprid. En: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Imidacloprid_2018_05_21.pdf
- Golombieski, J.I.; Marchesan, E.; Baumart, J.S.; Reimche, G.B.; Resgalla-Júnior, C.; Storck, L. & Santos, S. 2008. Cladocera, Copepods and Rotifers in rice-fish culture handled with metsulfuron-methyl and azimsulfuron herbicides and carbofuran insecticide. *Ciência Rural*, 38: 2097-2102.
- Gomero-Osorio, L. & Von Hildebrand, A. 1990. *Los plaguicidas remedios que matan: consumo de plaguicidas en el Perú y sus consecuencias ambientales*. Lima: Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Guerrero, J.A. & Velandia, Y. 2013. Evaluación de metodologías para el análisis de productos tóxicos de la degradación de fungicidas ditiocarbamatos. *Revista Colombiana de Química*, 42: 17-22.
- Güven, K.D. 1998. The accumulation and histological effects of organometallic fungicides Propineb and Maneb in the kidneys of fetus and female rats during pregnancy. *Toxicology letters*, 99: 91-98.

- Herbrandson, C.; Bradbury, S.P. & Swackhamer, D.L. 2003. Influence of suspended solids on acute toxicity of carbofuran to *Daphnia magna*: I. Interactive effects. *Aquatic Toxicology*, 63: 333-342.
- Iannacone, J. & Alvarino F.L. 2002. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida cartap en bioensayos con tres invertebrados. *Agricultura Técnica*, 62: 366-374.
- Iannacone, J. & Alvarino, L. 2007. Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 6: 101-110.
- Iannacone, J. & Tejada, M.A. 2007. Empleo de la regeneración de la planaria de agua dulce *Girardia festae* (Borelli, 1898) (Tricladida: DugesIIDae) para evaluar la toxicidad del carbofurano. *Neotropical Helminthology*, 1: 7-14.
- Iannacone, J. 2007a. Efecto toxicológico del “Sachayoco”, *Paullinia clavifera* (Sapindaceae) sobre *Daphnia magna* y sobre dos controladores biológicos de plagas agrícolas. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2:15-25.
- Iannacone, J. 2007b. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no Destinatarios. *Agricultura Técnica*, 67: 126-138.
- Iannacone, J.; Alvarino, L. & Mamani, N. 2011. Estimación de la toxicidad combinada de mezclas de Furadán 4F® y Monofos® sobre *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 6: 23-29.
- Ieromina, O.; Peijnenburg, W.J.; de Snoo, G.; Müller, J.; Knepper, T.P.; Vijver, M.G. 2014. Impact of imidacloprid on *Daphnia magna* under different food quality regimes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33: 621-631.
- Jemec, A.; Tisler, T.; Drobne, D.; Sepčić, K.; Fournier, D. & Trebse, P. 2007. Comparative toxicity of imidacloprid, of its commercial liquid formulation and of diazinon to a non-target arthropod, the microcrustacean *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 68: 1408-1418.
- Key, P.; Chung, K.; Siewicki, T. & Fulton, M. 2007. Toxicity of three pesticides individually and in mixture to larval grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68: 272-277.
- Lee, B.Y.; Choi, B.S.; Kim, M.S.; Park, J.C.; Jeong, C.B.; Han, J. & Lee, J.S. 2019. The genome of the freshwater water flea *Daphnia magna*: A potential use for freshwater molecular ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 210: 69-84.
- Manrique-Guillén, J.I.; Iannacone, J. & Alvarino, L. 2018. Efecto tóxico del lufenurón sobre seis bioindicadores de calidad ambiental. *The Biologist (Lima)*, 16: 281-297.
- Marinovich, M.V. 2002. Facilitation of acetylcholine signaling by the dithiocarbamate fungicide propineb. *Chemical research in toxicology*, 15: 26-32.
- MAVDT (Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial). 2008. *Resolución Número (1442). Por la cual se establece el procedimiento para la*

expedición del dictamen técnico-ambiental al que alude la Norma Andina para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola, Decisión 436, de la Comisión de la Comunidad Andina, y se toman otras determinaciones. 14 de agosto de 2008. 7 p.

- Micheletto, J.; Sampaio, N.M.F.M.; Ruiz, H.Z.; Martins, L.R.R.; Liz, M.V. & Freitas, M.A.F. 2019. Acute ecotoxicity on *Daphnia magna* to evaluate effluent samples of Kraft pulp mill treated by UV/H₂O₂ process. *Revista Ambiente & Água*, 14: e2208.
- Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI]. 2016. *Boletín Estadístico de Producción Agrícola, Pecuaria y Avícola*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2016, de La Dirección General de Seguimiento y Evaluación: <http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/herramientas/boletines/prod-agricola-pecuaria-avicola/2016/boletin-produccion-comercializacion-avicola-mayo2016.pdf>
- Ongley, E.D. 1997. *Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos*. (Vol. Issue 55 of Estudio FAO.: Riego y drenaje). Food & Agriculture Org.
- Pavlaki, M.; Pereira, R.; Loureiro, S. & Soares. 2011. Effects of binary mixtures on the life traits of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74: 99-110.
- Pike, K.S.; Reed, G.L.; Graf, G.T. & Allison, D. 1993. Compatibility of Imidacloprid with Fungicides as a seed-treatment control of russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) and effect on germination, growth, and yield of wheat and barley. *Journal of Economic Entomology*, 86: 586-593.
- Planes, E. & Fuchs, J. 2015. Cuáles son los aportes de la ecotoxicología a las regulaciones ambientales. *Ciencia e Investigación*, 65: 45-62.
- Ruzhong, G.; Rui, C. & Liangyan, C. 1999. Evaluation on toxicity and safety of imidacloprid to environmental organisms. *Pesticide Science and Administration*, 20: 3.
- Sánchez-Bayo, F.Y. 2007. Ecological effects of imidacloprid on arthropod communities in and around a vegetable crop. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 42: 279-286.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria). 2015. *Registro y Control de Plaguicidas Agrícolas*. Obtenido de <https://www.senasa.gob.pe/senasa/servicio-de-consultas-y-tramites/>
- SIICEX (Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior). 2015. Recuperado el 20 de Febrero de 2015, de http://www.siicex.gob.pe/siicex/portal5ES.asp?_page_=172.17100&_portletid_=sfichaproductoinit&scriptdo=cc_fp_init&pproducto=%2085%20&pnomproducto=%20Esp%E1rrago
- Song, Y.; Rundberget, J.T.; Evenseth, L.M.; Xie, L.; Gomes, T.; Høgåsen, T.; Iguchi, T. & Tollefsen, K.E. 2016. Whole-organism transcriptomic analysis provides mechanistic insight into the acute toxicity of Emamectin Benzoate in *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*, 50: 11994-12003.
- Sotelo-Vásquez, D.L. & Iannacone, J. 2019. Toxicidad aguda de tres plaguicidas

(butaclor, oxiclóruo de cobre y clorpirifos) sobre el anfípodo bentónico marino *Apothyale grandicornis* (Kroyer, 1845) (Crustacea: Hyalidae). *Biotempo*, 16: 241-256.

Sumon, K.A.; Ritika, A.K.; Peeters, E.T.H.M.; Rashid, H.; Bosma, R.H.; Rahman, M.S.; Fatema, M.K. & Van den Brink, P.J. 2018. Effects of imidacloprid on the ecology of sub-tropical freshwater Microcosms. *Environmental Pollution*, 236: 432-441.

Tišler, T.; Jemec, A.; Mozetic, B. & Trebše, P. 2009. Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76: 907-914.

UH (University of Hertfordshire). 2018. *PPDB: Pesticide Properties DataBase. imidacloprid* (Ref: BAY NTN 33893). En: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/Reports/397.htm>

Valera, M.R.; Alvarino, L. & Iannacone, J. 2018. Toxicidad del fungicida kresoxim - metil sobre siete bioindicadores de calidad ambiental. *The Biologist* (Lima), 16: 299-321.

Received July 15, 2019.

Accepted September 29, 2019.