

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL 50 (CL₅₀) DE TRES
INSECTICIDAS DE USO DOMÉSTICO CON EL MISMO PRINCIPIO ACTIVO**

**MELISSA ESTEFANÍA BENÍTEZ BLANCO
JENNY LORENA LESMES MONTAÑEZ**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ, COLOMBIA
2014**

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL 50 (CL₅₀) DE TRES
INSECTICIDAS DE USO DOMÉSTICO CON EL MISMO PRINCIPIO ACTIVO**

**MELISSA ESTEFANÍA BENÍTEZ BLANCO
JENNY LORENA LESMES MONTAÑEZ**

**PROYECTO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERA
AMBIENTAL**

**Ing. JOHAN ALEXANDER ÁLVAREZ BERRIO
(Director)**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ, COLOMBIA
2014**

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros padres por ser aquellas personas que de una u otra forma influenciaron nuestras vidas, nos apoyaron y creyeron siempre en nosotros en el transcurso de la carrera.

Al ingeniero Johan Alexander Álvarez Berrio nuestro director de tesis, por brindarnos sus conocimientos, sabios consejos y valiosas sugerencias a lo largo de la realización de esta investigación. Gracias por la confianza depositada en nosotras, entusiasmo transmitido y horas de disposición y entrega.

A los profesores Claudia Fernanda Navarrete y Rafael Barragán gracias por su ayuda profesional, apoyo y colaboración en todo momento durante las pruebas necesarias para la realización de este proyecto.

Al colegio Carlos Alban Holguín I.E.D, por su colaboración con el préstamo de los implementos de laboratorio para la realización de la prueba.

CONTENIDO

RESUMEN.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	11
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3. MARCO DE REFERENCIA.....	12
3.1. MARCO TEÓRICO.....	12
3.1.1. Plaguicidas.....	12
3.1.2. Tetrametrina.....	17
3.1.3. Lombriz (<i>Eisenia foetida</i>).....	20
3.1.4. Bioensayos toxicológicos.....	23
3.2. MARCO CONCEPTUAL.....	24
3.3. MARCO INSTITUCIONAL.....	26
3.4. MARCO LEGAL.....	28
4. METODOLOGÍA.....	31
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
5.1. Análisis de mortalidad vs insecticida.....	43
5.2. Variación del peso de las lombrices respecto al peso inicial.....	46
5.3. Análisis de la reproducción.....	47
5.4. Cálculo estadístico T-Student.....	50
5.5. Cálculo del análisis de varianza (ANOVA) y Prueba Tukey.....	50
5.6. Análisis Probit.....	52
6. CONCLUSIONES.....	53
7. RECOMENDACIONES.....	55
8. BIBLIOGRAFÍA.....	56
9. ANEXOS.....	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación del plaguicida según el organismo que se interesa controlar.....	13
Tabla 2. Clasificación de plafuicidas según el grupo uímico del ingrediente activo	13
Tabla 3. Clasificación del plaguicida según su toxicidad aguda	16
Tabla 4. Clasificación de plafuicidas según su persistencia en el ambiente .	17
Tabla 5. Toxicidad en la dosis letal (DL ₅₀) en distintas especies para la Tetrametrina en Spray	19
Tabla 6. Edaddes de la lombriz <i>Eisenia foetida</i>	22
Tabla 7. Marco legal	28
Tabla 8. Materiales, reactivos, soluciones y sustancias de referencia	31
Tabla 9. Cálculo del estadístico T-Student	50
Tabla 10. Análisis de varianza para la prueba Tukey	52
Tabla 11. Comparación mortalidad Insecticidas 1,2 y 3	52
Tabla 12. Concentración letal 50 (CL ₅₀) Insecticidas 1,2 y 3	53

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Estructura química de la Tetrametrina	18
Ilustración 2. Anatomía de la lombriz	21
Ilustración 3. Lavado y peso de los organismos	33
Ilustración 4. Montaje experimental del ensayo de toxicidad	34
Ilustración 5. Selección de los organismos aleatoriamente	35
Ilustración 6. Adecuación del medio	35
Ilustración 7. Aplicación superficial de los insecticidas	38
Ilustración 8. Medición de temperatura, humedad y pH	39
Ilustración 9. Conteo de lombrices juveniles y cocones.....	40

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Mortalidad Acumulada vs Días del insecticida 1	43
Gráfica 2. Mortalidad Acumulada vs Días del insecticida 2	44
Gráfica 3. Mortalidad Acumulada vs Días del insecticida 3	45
Gráfica 4. Variación del peso de las limbrices respecto al peso inicial.....	46
Gráfica 5. Reproducción Insecticida 1	47
Gráfica 6. Reproducción Insecticida 2	48
Gráfica 7. Reproducción insecticida 3	49
Gráfica 8. Reproducción insecticida 1,2 y 3	49

RESUMEN

Los plaguicidas son compuestos que ayudan a la prevención, mitigación y/o control de algunas plagas de origen animal o vegetal, estos pueden ser de uso agrícola o doméstico. Los domésticos son usados para matar plagas como moscas, hormigas, polillas, pulgas, piojos entre otros, que se den al interior del hogar, trabajo y jardín. El uso indiscriminado, excesivo y poco cauteloso de este tipo de sustancias puede afectar seriamente la salud, principalmente generar una intoxicación que si no es tratada a tiempo puede llegar a ocasionar la muerte [1].

Con esta investigación se determinó la Concentración Letal 50 (CL₅₀) de tres insecticidas de uso doméstico, que contienen un mismo principio activo (Tetrametrina); esto se realizó mediante un ensayo de toxicidad en un periodo de 28 días con lombrices de tierra (*Eisenia foetida*), tomando como guía el método de la EPA 712-C-96-167-1996 [2].

La investigación se llevó a cabo en un lugar donde no se evidenciaban cambios de temperatura y luminosidad. Se prepararon 5 concentraciones para cada uno de los plaguicidas (Insecticida 1, Insecticida 2, Insecticida 3) y el blanco o control libre de contaminante que permitió lograr una estimación válida del error experimental. Además se contó con un número aceptable de repeticiones (3 réplicas para cada plaguicida), en el ensayo se adicionaron aleatoriamente 10 individuos a cada unidad experimental que contenía 250 gramos de tierra. Las lombrices de cada réplica fueron observadas y pesadas en periodos de 7 días; al finalizar las mediciones (día 28) se contó la cantidad de crías (cocones y juveniles) de cada unidad experimental.

En los resultados obtenidos se encontró que los tres insecticidas presentan diferencias significativas, el insecticida que presentó una mayor Concentración Letal 50 (CL₅₀), fue el insecticida 3 con un valor de 0,568 ml/Kg y una mortalidad del 56%, duplicando la CL₅₀ del insecticida 2 que es de 1,317 ml/Kg y una mortalidad de 25,33% y triplicando la del insecticida 1 que tiene un valor 5,556 ml/Kg y una mortalidad del 19,33%; con esto se observó que a menores concentraciones el insecticida que provocó mayor mortalidad fue el 3, siendo este el mas tóxico para las lombrices.

1. INTRODUCCIÓN

Alrededor del mundo se han puesto en marcha diferentes estudios con el fin de determinar el posible efecto tóxico que puede llegar a presentar algún compuesto al ecosistema y a la salud humana. Con el fin de evaluar la toxicidad de sustancias liberadas al ambiente, se usan bioensayos, que son herramientas comunes en el campo de la ecotoxicología a nivel mundial, los cuales permiten conocer los efectos nocivos que producen sobre los seres vivos diferentes tipos de agentes externos que estén presentes en el ambiente [3].

Para establecer la toxicidad de una sustancia se realizan bioensayos con organismos, y así se determina su potencial tóxico. Las pruebas de toxicidad permiten medir dicho potencial mediante indicadores como la concentración letal media (CL₅₀) [3].

Al realizar bioensayos, se puede utilizar cualquier organismo, o parte de ellos (células o tejidos cultivados in vitro) según el tipo de efecto o respuesta que se requiera estudiar. Las lombrices cumplen un papel ecológico primordial en el suelo, estas son utilizadas frecuentemente en evaluaciones toxicológicas; entre las especies más conocidas para este fin están las del género *Eisenia* en sus especies *foetida* y *andrei* [4].

En particular, la lombriz roja californiana o *Eisenia foetida* es utilizada con gran frecuencia como organismo prueba, puesto que presenta una longevidad de aproximadamente 16 años, es muy prolífica y de gran apetito, ingiriendo diariamente una cantidad de materia orgánica equivalente al propio peso de cada individuo (alrededor de 1 g/día en individuos adultos) [4].

La contaminación del suelo con compuestos orgánicos como lo son los plaguicidas, puede afectar a la población de lombrices, por ingestión o por contacto. A través de la piel, la sustancia se acumula en sus tejidos y puede constituir un problema para el número de animales que se alimentan de ellas. [5]

En la presente investigación se comparan tres insecticidas de uso doméstico con el mismo principio activo (Tetrametrina), tomando como guía el método de la EPA 712-C-96-167-1996 [2], mediante la exposición de la lombriz *Eisenia foetida*; con el fin de identificar cuál de los tres presenta un mayor efecto toxicológico y determinar la concentración letal 50 (CL₅₀).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la Concentración Letal 50 (CL₅₀) de tres insecticidas de uso doméstico con el mismo principio activo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la concentración de plaguicida que se utilizara en el ensayo toxicológico.
- Determinar la distribución aleatoria de los individuos en el sustrato biológico.
- Identificar cuál de los tres plaguicidas de uso doméstico presenta el mayor efecto toxicológico.
- Comparar los valores resultantes, con la legislación colombiana e internacional.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1. MARCO TEÓRICO

3.1.1. Plaguicidas

Según el código internacional de conducta sobre la distribución y uso de plaguicidas de la Food and Agriculture Organization (FAO), un plaguicida se define como: “sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales; las especies indeseables de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, elaboración, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; productos agrícolas, de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales” [6].

➤ **Composición química de los plaguicidas**

Los plaguicidas se componen químicamente por el principio activo que produce la acción plaguicida, por los materiales inertes que son aquellos que facilitan el reparto y disminuyen la toxicidad de este. Por otro lado los adyuvantes ayudan al plaguicida a ser más eficaz, modificando las propiedades físicas o químicas del principio activo, y por último están los aditivos que cumplen diversas funciones como antiapelmazantes colorantes, repelentes olorosos entre otros [7].

➤ **Clasificación de los plaguicidas**

Los plaguicidas se clasifican en función de algunas de sus características principales. Por ejemplo según el tipo al que son dirigidos, como los insecticidas y acaricidas que se clasifican en organoclorados, organofosforados, organosulfurados y carbamatos. También se habla de los herbicidas y fungicidas que son orgánicos o inorgánicos, y otros como los nematicidas, molusquicidas y rodenticidas [8].

Existen cuatro formas de clasificar los plaguicidas:

- Según el tipo de organismo al que son dirigidos.
- Según el grupo químico del ingrediente activo.

- Según su toxicidad aguda.
 - Según su persistencia al medio ambiente.
- ❖ Según el tipo de organismo al que son dirigidos:

Como se dijo anteriormente los plaguicidas se pueden clasificar dependiendo de su función, en este caso aquel que se hace más efectivo para controlar determinado organismo. En la tabla 1, se observa la clasificación de los plaguicidas según el organismo que se interesa controlar.

Tabla 1. Clasificación del plaguicida según el organismo que interesa controlar.

Organismo	Tipo
Insecto	Insecticida
Hongos	Fungicida
Malezas	Herbicida
Ácaros	Acaricidas
Nematodos	Nematicidas
Caracoles	Molusquicidas
Roedores	Rodenticidas

Fuente: [9]

- ❖ Según el grupo químico del ingrediente activo:

La tabla 2 muestra la clasificación de los plaguicidas en diversas familias según el grupo químico del ingrediente activo de los compuestos.

Tabla 2. Clasificación de plaguicidas según grupo químico del ingrediente activo.

Familia Química	Ejemplo
Organoclorados	DDT, aldrin, endosulfan, endrin
Organofosforados	Bromophos, diclorvos, malation
Carbamatos	Carbaryl, methomyl, propoxur
Tiocarbamatos	Ditiocarbamato, mancozeb, maneb
Piretroides	Cypermethrin, fenvalerato, permethrin
Derivados bipyridilos	Cloromequat, diquat, paraquat
Derivados del ácido fenoxiacético	Dicloroprop, picram, silvex

Derivados cloronitrofenolicos	DNOC, dinoterb, dinocap
Derivados de triazinas	Atrazine, ametrin, desmetrin, simazine
Compuestos orgánicos del estaño	Cyhexatin, dowco, plictran
Compuestos inorgánicos	Arsenicopentoxido, obpa, fosfito de magnesio
Compuestos de origen botánico	Rotenona, nicotina, aceite de Canola.

Fuente: [10]

Entre los grupos químicos del ingrediente activo presente en los plaguicidas más comunes, se encuentran:

- Plaguicidas Organoclorados

Los plaguicidas organoclorados se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente tanto terrestre como acuático, estos son ampliamente utilizados para combatir plagas en la industria y la agricultura [11].

Sus propiedades fisicoquímicas los hacen muy resistentes a la degradación biológica, volviéndolos persistentes, esto indica que en periodos prolongados representan una amenaza para la salud pública, ya que su vía de absorción puede ser por vía respiratoria, por el tracto digestivo y, con mayor dificultad, por vía cutánea, causando una mayor acción toxica en el SNC (sistema nervioso central) por alteración en el transporte de sodio y potasio a través de las membranas de los axones. [11].

Son usados como insecticidas, acaricidas, herbicidas y fungicidas. Estos plaguicidas se aplican durante la siembra de trigo, maíz, arroz, soya, sorgo y cártamo; en frutales como la naranja, mango, melón, sandía y piña, así como en plantaciones de café, caña de azúcar, entre otras [11].

- Plaguicidas organofosforados

Son derivados del ácido fosfórico, por ende presentan una estructura química inestable y se hidrolizan con rapidez, razón por la cual, a diferencia de los organoclorados, no tienen el riesgo de acumularse en el medio ambiente [12].

Los organofosforados son absorbidos por las vías cutáneas mucosas, respiratorias y digestivas. Tienen un amplio volumen de distribución y son metabolizados en el hígado a través del citocromo, generando en ocasiones, compuestos aún más tóxicos. Además pueden producir signos y síntomas de intoxicación aguda como sudoración, salivación, lagrimeo, palidez, taquicardia e hipertensión, depresión respiratoria, convulsiones o coma [12].

- Plaguicidas carbamatos

Es un conjunto de compuestos que tienen un amplio margen entre la dosis que produce síntomas y la que provoca la muerte. Pueden ser absorbidos a través de vías respiratorias, tracto gastrointestinal, y con mayor dificultad en la piel [12].

Al igual que los organofosforados, los carbamatos inhiben las colinesterasas. Por ello la duración de su acción es más corta y su toxicidad más baja. Dependen de su toxicidad intrínseca, de la dosis y de la vía de absorción, siendo superponible al descrito para los organofosforados en relación con los efectos muscarínicos, pero de menor intensidad y duración. En principio no provoca manifestaciones del sistema nervioso central [12].

- Plaguicidas piretroides

Son moléculas con actividad insecticida que se aplican a cosechas, plantas de jardines, animales domésticos y también directamente a seres humanos. En general, estos compuestos son considerados como los insecticidas más inocuos porque su toxicidad primaria es baja, sin embargo en comparación con otros plaguicidas, sus propiedades alergénicas son notables y se han comunicado numerosos casos de dermatitis por contacto y de alergia respiratoria [13].

El mecanismo de acción de estas sustancias no es conocido, pero todo indica que afectan al sistema nervioso, lo que las hace capaces de producir convulsiones y parálisis. Sobre todo afectan a las membranas de las neuronas [13].

❖ Según su toxicidad aguda:

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación según el grado de toxicidad aguda o peligrosidad del plaguicida (ver tabla 3). Donde la toxicidad aguda es definida como aquella capacidad del plaguicida de producir daño agudo a la salud a través de una o más exposiciones, en un periodo de tiempo relativamente corto. Usualmente la dosis es registrada como el valor de DL₅₀ (Dosis Letal Media), que es la dosis letal que se requiere para matar al 50% de la población. Se realiza bajo condiciones controladas y administradas por una vía específica y se expresa en (mg/Kg) [10].

Tabla 3. Clasificación de plaguicidas según su toxicidad aguda.

Clase	Toxicidad	Rango DL ₅₀	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	< 50	Paratión, dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	50–200	Eldrín, diclorvos
Clase II	Moderadamente peligrosos	200–2000	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	> 2000	Malatión
Clase U	Improbable que presente peligro agudo	5000 o mayor	_____

Fuente: [14]

❖ Según su persistencia al medio ambiente:

En la tabla 4 se muestra la persistencia de los plaguicidas en el medio ambiente, o sea la capacidad de estos para retener sus características físicas, químicas y funcionales en el medio en el cual es transportado o distribuido, durante un periodo limitado después de ser emitido. Aquellos plaguicidas que persisten más tiempo en el ambiente, tienen mayor probabilidad de interactuar con los diversos elementos que conforman el ecosistema [15].

Tabla 4. Clasificación de los plaguicidas según su persistencia en el ambiente.

Persistencia	Tiempo
Ligeramente persistente	Menor de 4 semanas
Poco persistente	De 4 a 26 semanas
Moderadamente persistente	De 27 a 52 semanas
Altamente persistente	De 1 a 20 años
Permanentes	Mayor de 20 años

Fuente: [10].

En este caso, la Tetrametrina (Principio activo) se clasifica según su persistencia como ligeramente persistente, debido a que es poco fotoresistente, se descompone a los pocos días en el suelo y no presenta riesgos de bioacumulación [16].

3.1.2. Tetrametrina

El componente activo que comparten los tres plaguicidas de uso doméstico elegidos para realizar el ensayo toxicológico es la Tetrametrina, como todos los piretroides es neurotóxica, lo que quiere decir que bloquea o retarda el transporte de sodio a través de la membrana celular (tanto de los parásitos, como de los hospedadores). Lo cual provoca descargas repetitivas o despolarización espontánea de las membranas [16].

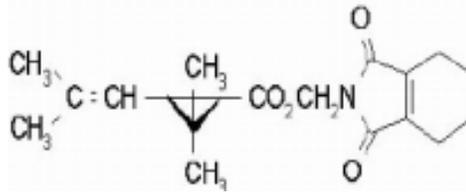
A continuación se describirán las características más relevantes de la Tetrametrina.

- Nombre Químico (IUPAC):

Ciclohex-1-en-1,2-dicarboximidometil(1RS,3RS;1RS,3SR)-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil)ciclopropanocarboxilato.

- Estructura química:

Ilustración 1. Estructura química de la Tetrametrina



Fuente: [17]

- Formula química: C₁₉H₂₅NO₄
- Nombre Comercial, Formulación (%), Presentación: Neo-Pynamin, 92.000, Polvo Técnico.
- Tipo de Plaguicida: Insecticida
- Clasificación: Piretroide

➤ **Propiedades Físicas Y Químicas**

Sólido cristalino de color blanco, con ligero olor. Su punto de ebullición se encuentra entre los 180 y 190 °C a 0.1 mm Hg y su punto de fusión entre los 68 y 70 °C. Su densidad relativa es igual a 1.108 a 20 °C. Su solubilidad en agua es igual a 1.83 mg/L a 25 °C. Es soluble en acetona, etanol, metanol, hexano, tolueno y n-octanol. Tiene una presión de vapor igual a 7.1x10⁻⁶ mm Hg a 30 °C. No es corrosivo [17].

➤ **Persistencia**

Cuando está presente en el aire como vapor es destruido al reaccionar con radicales hidroxilo y ozono, la vida media de dichas reacciones es de 3 horas y 30 minutos respectivamente. Por su parte, cuando se encuentra unido a las partículas suspendidas es removido de la atmósfera por precipitación húmeda y seca. Este compuesto es susceptible además a la fotólisis directa en el aire, mediante reacciones de epoxidación, oxidación e hidropoxidación. En los suelos permanece prácticamente inmóvil. No existen datos referentes a su degradación biológica; sin embargo, por su similitud química con otros piretroides biodegradables se espera que la Tetrametrina sea destruida por acción de los

microorganismos. En los cuerpos de agua se adsorbe a los sólidos suspendidos y sedimentos. Su potencial de bioconcentración es bajo. Aunque puede evaporarse de los suelos húmedos y cuerpos de agua, este proceso es atenuado significativamente por su unión a las partículas. Es resistente a la hidrólisis bajo condiciones ambientales [17].

➤ **Toxicidad para organismos y el medio ambiente**

Tipo toxicológico: (IV) Su toxicidad para peces varía de alta a extremadamente alta. Es moderadamente tóxico para el zooplancton, ligeramente tóxico para aves y animales domésticos. También es tóxico para abejas. No se considera un riesgo significativo para la vida silvestre debido a su baja persistencia en el ambiente [17].

Toxicidad (DL₅₀): es medida por experimentación con suficiente número de animales para obtener valores de significación media.

Tabla 5. Toxicidad en dosis letal (DL₅₀) en distintas especies para la Tetrametrina en Atomizador.

DESCRIPCIÓN	ESPECIE	
	RATA	CONEJO
DL ₅₀ Aguda oral (mg/kg)	>5000	>2460
DL ₅₀ Dermal (mg/kg)	ND	2000
LC ₅₀ Inhalación (4h)(mg/l)	2,74	ND

Fuente: [18]

La Tetrametrina es una sustancia que actúa en el sistema nervioso central y periférico. La exposición repetida puede causar dermatitis de tipo alérgico, irritación ocular, efecto narcótico [18].

Síntomas del sistema nervioso central: temblores, convulsiones, irritación de las vías respiratorias, tales como, tos, broncoespamos y disnea, reacciones alérgicas podrían causar, anafilaxis, hipertensión, sudor, edemas cutáneos, colapso periférico vascular [18].

➤ Usos y Aplicaciones

La Tetrametrina se emplea abundantemente en la higiene pública y doméstica, apenas en la agricultura. No se emplea en medicina humana. Industrialmente se usa exclusivamente en plantas formuladoras de plaguicidas y en el aspecto pecuario para el control de pulgas, garrapatas y piojos en perros y gatos sobre todo en champús, talcos, jabones, etc [17].

3.1.3. Lombriz (*Eisenia foetida*)

- Nombre científico: *Eisenia foetida*
- Nombre común: Lombriz roja, lombriz roja californiana, lombriz compostera, lombriz de abono.

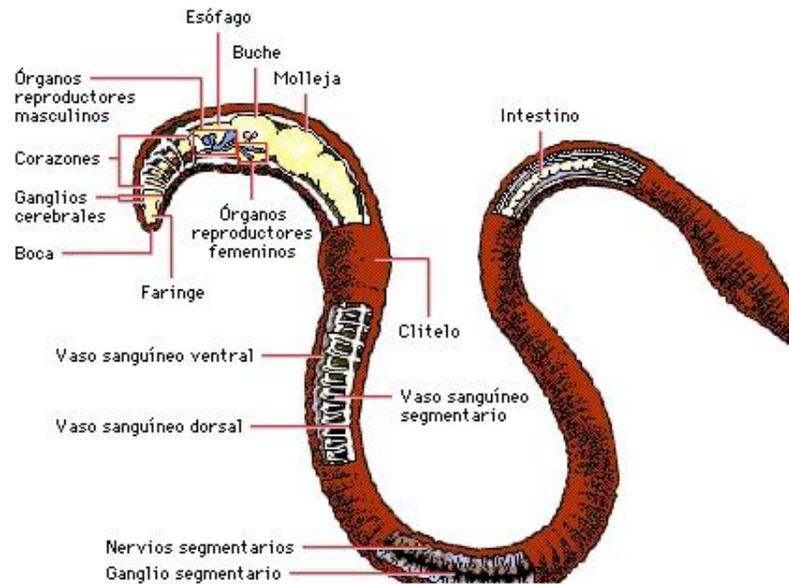
➤ Características

La lombriz *Eisenia foetida* es fotofoba, es decir que si se expone a los rayos directos de sol, muere en minutos. El cuerpo de las lombrices de tierra es segmentado y de forma alargada, sus extremos son un poco más delgados y la parte ventral algo aplanada. Estas se mueven por peristalsis es decir, por una serie de contracciones musculares circulares que recorren el cuerpo y permiten su movimiento gradualmente hacia adelante [19].

Esta especie de anélido en estado adulto mide según Chamorro y Romero (1986), entre 4 y 10 cm de longitud y tiene diámetro de 3 a 5 mm. El peso corporal es de un gramo aproximadamente y consume a diario una cantidad de residuos orgánicos equivalentes a su peso. La digestión y absorción tienen lugar en el intestino, y el residuo que no se digiere es expulsado a través del ano [19].

En condiciones tropicales la lombriz roja californiana, se adapta a un amplio rango de temperaturas que oscilan entre 12 y 31 °C, siendo la óptima para su desarrollo entre los 20 y 25 °C [19].

Ilustración 2. Anatomía de la lombriz



Fuente: [20]

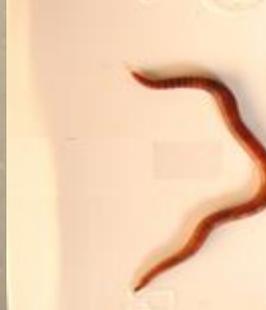
➤ Reproducción

Las lombrices se reproducen una vez por semana, durante el capullo se producen dos capullos que contienen de 2 a 4 pequeñas lombrices cada uno, con un número máximo observado de nueve embriones por capullo [19].

Es hermafrodita incompleta, es decir tiene ambos sexos pero necesita de otro ejemplar para poder fecundarse. Cada lombriz está dotada de un aparato genital masculino y de un aparato genital femenino [21].

Los capullos se fecundan cada 7-10 días. En fase de acoplamiento, dos lombrices giran en sentido opuesto la una de la otra, de manera que pueden contactar el aparato genital masculino de una, con el femenino de la otra. De este modo reciben el esperma y lo retienen hasta la fecundación, que se da a través del clitelo (anillo más ancho, situado en la parte superior de la lombriz) [21].

Tabla 6. Edades de la lombriz *Eisenia foetida*

Cocones (puesta/capullo)	Juveniles	Subadultos	Adultos
			
<p>Eclosiona luego de 15 días y de él se pueden obtener de 2 a 20 pequeñas lombrices.</p>	<p>Lombrices transparentes, o con pigmento rojo insuficiente para evitar que el tubo digestivo se observe al trasluz.</p>	<p>Carentes de clitelo.</p>	<p>Poseen clitelo, lo que indica que es sexualmente madura.</p>

Fuente: [22]

➤ Actividades y Usos

Las lombrices ayudan a acelerar los procesos de degradación de materia orgánica (facilita y agiliza el proceso de descomposición), excavan galerías en el suelo aumentando la conductividad hídrica del mismo hasta su saturación, y desinfectan el material, lo que quiere decir que el abono resultante está libre de parásitos y materias dañinas [23].

Por otro lado producen la mejor tierra para sembrar siendo un excelente fertilizante líquido, conocido como "humus de lombriz" y "té de lombriz", y sirve como alimento para gallinas, pescados y otros animales [23].

3.1.4. Bioensayos toxicológicos

Los bioensayos toxicológicos son herramientas de determinación y análisis de la toxicidad de un agente, generalmente de origen desconocido, diseñados para medir los efectos de uno o más contaminantes sobre una o más especies de organismos, obteniendo así, una relación dosis-respuesta del agente [24].

El efecto se puede evaluar a diferentes niveles (subcelular, enzimático, morfológico, fisiológico, histológico, sistémico, poblacional o de la comunidad) y clasificarse en cuantitativo (cantidad de organismos afectados) o gradual (grado de alteración) [24].

➤ Tipos de bioensayos toxicológicos

Existen dos tipos de bioensayo toxicológicos, que se diferencian según su respuesta:

Los primeros son los ensayos de toxicidad aguda que cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico o sustancia a una especie en particular. El valor calculado se denomina concentración letal media (CL_{50}), en un tiempo determinado (generalmente 48 o 96 horas) [24].

Los otros tipos de bioensayos son los de toxicidad crónica que estiman la concentración efecto media (CE_{50}), la cual es la concentración de la sustancia de prueba que causa un efecto al 50% de la población experimental, al cabo de un tiempo determinado [24].

➤ Selección de Especies

Para obtener la máxima información de los bioensayos es necesario seleccionar los organismos más apropiados, según el tipo de organismo son diferentes los períodos de aclimatación en el laboratorio y es sumamente importante que los organismos de ensayo se manipulen con cuidado, no sufran daños, se encuentren sanos y sean de edad o tamaño [25].

La selección de organismos para bioensayos debe basarse en:

- Los objetivos del programa toxicológico
- La información disponible sobre los posibles organismos
- Las características de las especies
- Las instalaciones y equipos de laboratorio
- El nivel de capacitación de los técnicos [25]

3.2. MARCO CONCEPTUAL

Aditivo: Productos que se agregan a los insumos para mejorar sus condiciones físicas o químicas, sin que ejerzan efectos perjudiciales a los vegetales, ni alteran la composición garantizada de los productos [26].

Aplicación terrestre: Aplicación de plaguicidas realizada desde el suelo. Puede ser manual o mecanizada [27].

Bioacumulación: Es el almacenamiento de un contaminante en un organismo o comunidad biológica [28].

Bioensayo: Ensayo en el cual el poder o potencia de una sustancia es medido a través de la respuesta de organismos vivos o sistemas vivientes [29].

Bioconcentración: La tendencia de un compuesto químico a acumularse en un organismo vivo a niveles que exceden la concentración del ambiente que lo rodea [27]

Biomagnificación: El proceso por el cual la concentración de un compuesto químico en un organismo es mucho más grande que el medio que lo rodea, debido no solamente a la bioconcentración sino también al consumo de alimento que ha bioacumulado progresivamente este compuesto químico en su medio [27].

Concentración Efectiva Media (CE₅₀): concentración obtenida estadísticamente, o estimada gráficamente, que causa un efecto determinado en 50% de un grupo de organismos [30]

Concentración Letal media (CL₅₀): es la concentración obtenida estadísticamente, o estimada gráficamente, que causa la muerte del 50% de un grupo de organismos [30].

Curva dosis/respuesta: Expresión gráfica de la relación entre la dosis y la proporción (%) de los individuos de una población que experimentan o no un efecto determinado [31].

Dosis: Cantidad de sustancia (en g o en mg) que se absorbe en 24 horas por unidad de peso corporal (generalmente en kg) y que puede estar fraccionada en varias tomas [32].

Dosis letal: cantidad de material tóxico por unidad de peso corporal de un animal de prueba y que es capaz de matar a toda la población [33].

Ecotoxicología: Trata de los efectos de las sustancias sobre los organismos, en cuanto a los daños directos e indirectos ocasionados [27].

Efecto tóxico: Parámetro general (como peso corporal, temperatura, etc.) que puede manifestar cambios en el estado general del organismo expuesto a sustancias tóxicas [31].

Insecticida: Sustancia usada para destruir insectos, en cualquiera de sus formas (huevos, larvas, etc.) [31].

Plaga: Cualquier organismo que perturbe o afecte el desarrollo y el crecimiento de un medio. Tradicionalmente este término se ha designado solamente a los insectos y ácaros, pero ahora se contemplan las malezas y los microorganismos que compiten con el medio [27].

Plaguicida: Sustancia o mezcla de sustancias químicas de origen orgánico y/o sintético, de naturaleza tóxica y por consiguiente con un alto poder para alterar en forma drástica la fisiología de los organismos. Se utilizan en la actividad agrícola como medio de control para enfermedades, plagas y malezas. Normalmente, la acción del plaguicida no es específica para la especie objetivo y en consecuencia se producen efectos de diferentes magnitudes sobre otras especies y sobre los ámbitos expuestos a su acción [27].

Principio activo: Toda materia, cualquiera sea su origen-humano, vegetal, químico o de otro tipo- a la que se le atribuye una actividad apropiada para

construir un medicamento [34].

Riesgo tóxico: Probabilidad que un plaguicida cause un daño o efecto adverso por la utilización agrícola en las condiciones de uso [27].

Toxicidad: Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y severidad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes [31].

Toxicidad Aguda: Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos dentro de un corto plazo de tiempo (usualmente hasta 14 días) después de la administración de una dosis única (o una exposición dada) o tras dosis o exposiciones múltiples en 24 horas [31].

Toxicidad crónica: Capacidad de una sustancia para producir efectos adversos consecuentes a una exposición prolongada; éstos pueden aparecer durante o después de interrumpida la exposición [31].

Tóxico: Cualquier agente químico o físico capaz de producir un efecto adverso para la salud. Todos los agentes físicos y químicos son tóxicos potenciales, ya que su acción depende de la dosis y de las circunstancias individuales y ambientales [31].

Vía de Exposición: Medio por el que un tóxico accede a un organismo sea a través del tracto gastrointestinal o vía digestiva o enteral (ingestión), del tracto respiratorio o vía respiratoria o pulmonar (inhalación), a través de la piel o vía dérmica o cutánea (tópica), o mediante introducción o inyección por las vías intravenosa, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal [31].

3.3. MARCO INSTITUCIONAL

- Universidad Santo Tomas

El Primer Claustro Universitario de Colombia, la Universidad Santo Tomás, fue fundado por la Orden de Predicadores el 13 de junio de 1580 en la ciudad de Bogotá. Esta cuenta con acreditación institucional de alta calidad [35].

El presente trabajo de grado, será presentado en sus instalaciones para otorgar el título de Ingeniería Ambiental. Esta institución se verá beneficiada por la adquisición de uno de los primeros proyectos de grado que busca ampliar el conocimiento acerca de la toxicidad de los plaguicidas de uso doméstico.

- Colegio Carlos Alban Holguín I.E.D

Ubicado en la ciudad de Bogotá Colombia, en la localidad Séptima Bosa. Es una institución educativa oficial de carácter formal académico, propende por la formación holística de seres humanos a través del fortalecimiento de principios y valores universales y locales haciéndolos competentes académica, laboral y socialmente para gestar desarrollo en beneficio de las condiciones de vida individuales y colectivas, que además integra niños, niñas y jóvenes de baja visión e invidentes [36].

La institución nos proporcionó materiales de laboratorio que fueron de gran ayuda para la realización del proyecto de grado.

- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible

Es la entidad encargada de la gestión del ambiente y de los recursos naturales renovables, orienta, regula y define las políticas y regulaciones a las que se sujetarán la recuperación, conservación, protección, ordenamiento, manejo, uso y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales renovables y del ambiente de la nación, a fin de asegurar el desarrollo sostenible, sin perjuicio de las funciones asignadas a otros sectores [37].

Con este proyecto de grado contribuimos a reiterar la toxicidad de los plaguicidas de uso doméstico. Son sustancias que deben ser adecuadamente manipuladas para evitar una posible afectación al medio donde es aplicado y a la salud.

- Ministerio de Salud y Protección Social

El Ministerio de Salud y Protección Social formula, adopta, dirige, coordina, ejecutar y evalúa la política pública en materia de salud, salud pública, y promoción social en salud, y participar en la formulación de las políticas en materia de pensiones, beneficios económicos periódicos y riesgos profesionales [38].

Con el presente proyecto de grado contribuimos a prevenir posibles afectaciones a la salud por la inapropiada manipulación de plaguicidas de uso doméstico.

- Organización Mundial de la Salud (OMS)

Es la autoridad directiva y coordinadora de la acción sanitaria en el sistema de las Naciones Unidas. Es la responsable de desempeñar una función de liderazgo en los asuntos sanitarios mundiales, configurar la agenda de las investigaciones en salud, establecer normas, articular opciones de política basadas en la evidencia entre otras funciones [39].

El presente proyecto de grado contribuye a la prevención de los riesgos para la salud derivados del uso y manipulación de plaguicidas de uso doméstico.

3.4. MARCO LEGAL

La tabla 7, presenta la normativa relacionada a plaguicidas a nivel nacional y su respectivo resumen.

Tabla 7. Marco legal

Norma	Resumen
Decreto 2104 de 1983 (Julio 26). Ministerio de Agricultura	Prestación del servicio especial para el manejo de empaques o envases de productos químicos de cualquier naturaleza, en especial de plaguicidas y de preparaciones de uso agrícola o pecuario.
Ley 84 de 1989 (Diciembre 27). Estatuto Nacional de Protección de los Animales	<p>En los artículos 6 y 9:</p> <p>Artículo 6. El que cause daño a un animal o realice cualquiera de las conductas consideradas como crueles para con los mismos por esta Ley, será sancionado con la pena prevista para cada caso.</p> <p>Artículo 9. Se exceptúan de lo dispuesto en el Artículo 6 la muerte de plagas domésticas o agropecuarias mediante el empleo de plaguicidas o productos químicos o similares autorizados por el Ministerio de Agricultura o las autoridades sanitarias.</p>
Decreto 1843 de 1991	Por el cual se reglamentan parcialmente los

(Julio 22) Presidente de la República de Colombia	títulos III, V,VI, VII Y XI de la Ley 09 de 1979, sobre uso y manejo de Plaguicidas.
Decreto 2104 de 2005 (Julio 15). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	Artículo 1. Deróguese el artículo 7 del Decreto 502 de 2003, "por el cual se reglamenta la Decisión Andina 436 de 1998 para el registro y control de plaguicidas químicos de uso agrícola".
Resolución 2668 de 2007 (Octubre 8). Instituto Colombiano Agropecuario	Por la cual se dictan disposiciones para la ampliación de uso temporal de plaguicidas químicos, bioinsumos y extractos vegetales de uso agrícola para su uso en cultivos menores.
Resolución 389 de 2011 (Diciembre 26). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	Por la cual se someten a libertad vigilada algunos fertilizantes y plaguicidas de uso agrícola.
Resolución 534 de 2012 (Marzo 1). Instituto Colombiano Agropecuario	Por medio de la cual se autoriza la importación de sustancias codificadas en fase de desarrollo al territorio nacional y se establecen los requisitos para otorgar el Registro a los Centros de Experimentación y Desarrollo Agronómico de Sustancias Codificadas en Fase de Investigación y/o Desarrollo de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola.
Resolución 1675 de 2013 (Diciembre 2). Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible	Por la cual se establecen los elementos que deben contener los Planes de Gestión de Devolución de Productos Posconsumo de Plaguicidas.
Decreto 625 de 2014 (Marzo 26). Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural	Por el cual se modifica el Decreto número 1988 de 2013. Artículo 1. Ámbito de Aplicación. El presente decreto se aplica a todas las personas naturales o jurídicas que produzcan, formulen, importen, distribuyan, comercialicen, vendan o realicen, personalmente o por interpuesta persona, actividades mercantiles con fertilizantes, plaguicidas, medicamentos veterinarios y productos biológicos de uso pecuario, ya sean nacionales o importados, en el territorio nacional.

<p style="text-align: center;">Decreto 2041 del 2014 (Octubre 15) Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible</p>	<p>Artículo 8. La Autoridad Nacional de Licencias Ambientales -ANLA- otorgará o negará de manera privativa la licencia ambiental para los siguientes proyectos, obras o actividades:</p> <p>10. Pesticidas:</p> <p>10.1. La producción de pesticidas;</p> <p>10.2. La importación de pesticidas en los siguientes casos:</p> <p>a) Plaguicidas para uso agrícola (ingrediente activo y/o producto formulado), con excepción de los plaguicidas de origen biológico elaborados con base en extractos de origen vegetal. La importación de plaguicidas químicos de uso agrícola se ajustará al procedimiento establecido en la Decisión Andina 436 de 1998, o la norma que la modifique, sustituya o derogue. b) Plaguicidas para uso veterinario (ingrediente activo y/o producto formulado), con excepción de los productos formulados de uso tópico para mascotas; los accesorios de uso externo tales como orejeras, collares, narigueras, entre otros. c) Plaguicidas para uso en salud pública (ingrediente activo y/o producto formulado). d) Plaguicidas para uso industrial (ingrediente activo y/o producto formulado). e) Plaguicidas de uso doméstico (ingrediente activo y/o producto formulado), con excepción de aquellos plaguicidas para uso doméstico en presentación o empaque individual.</p>
--	---

Fuente: Autoras

4. METODOLOGÍA

Se realizó un ensayo de toxicidad mediante el método de la EPA 712-C-96-167-1996, con lombrices de tierra (*Eisenia foetida*) en estado adulto, con el fin de evaluar la toxicidad de un suelo contaminado con tres insecticidas de uso doméstico que comparten el mismo principio activo (Tetrametrina). Estas lombrices estuvieron expuestas a diferentes concentraciones de insecticidas (1, 2, 3) y se preparó un control libre de contaminantes, para posteriormente identificar el efecto letal que se da en los organismos.

Para la realización del bioensayo, fueron necesarios los siguientes instrumentos, reactivos y sustancias:

Tabla 8. Materiales, reactivos, soluciones y sustancias de referencia.

Materiales y equipos	Reactivos y soluciones	Sustancia de referencia	
Vasos precipitado	Agua destilada	Insecticida 1	
Tela recubierta con papel aluminio o plástico	Carbonato de calcio (CaCO ₃)	Composición química	%P/P
Micropipeta (200 a 100 µL)		d-Fenotrina: [3(fenoxi)fenil] metil 2,2-dimetil 3-(2-metil-1-propenil) Ciclopropanocarboxilato	0,1244%
Termómetro		Tetrametrina: 2,4,5,6-tetahidriftalimido metil (1RS)-cis-trans-crisantemato	0,3515%
Higrómetro		d-Aletrina:d cis trans crisantemato	0,1017%
60 Contenedores (1L)		Enmascarante, Solvente	49,4224%
Balanza (Gramera)		Propelente (Propano/Butano:20/80)	50,0000%
Bata		Total	100,00%

Guantes	Insecticida 2	
Tapabocas	Composición química	%P/P
Papel filtro	d-fenotrina: [3(fenoxi)fenil] metil 2,2-dimetil 3-(2-metil-1-propenil) Ciclopropanocarboxilato	0,1254%
Poliestireno expandido	Tetrametrina: 3,4,5,6-tetahidriftalimido metil (1RS)-cis-trans-crisantemato	0,3496%
	d-aletrina:d cis trans crisantemato	0,0999%
	Solvente hidrocarbonado,enmascarante	29,4251%
	Propelente (Isobutano/propano:80/20)	70,0000%
	Total	100,0000%
	Insecticida 3	
	Composición química	%P/P
	d-fenotrina: 2,2-dimetil-3-(2-metilpropenil) Ciclopropanocarboxilato	0,15%
	d-tetrametrina (1,3,4,5,6,7-Hexahidro-1,3-dioxo-2H-isoindol-2-il) metil 2,2-dimetil-3-(2-metil-3-(2-metil-1propenil) Ciclopropanocarboxilato	0,15%
	d-aletrina: 2, Metil-4Oxo-3-(2-propenil)-2-ciclopenten-1-il2,2-dimetil-3-(2-metil-1-propenil) Ciclopropanocarboxilato	0,15%
	Ingredientes activos	59,55%
	Propelente (Propano/Butano:20/80)	40%
	Total	100,00%

Fuente: [2]

1. Diseño experimental

Las siguientes variables fueron controladas y medidas:

- Variable Independiente: En la prueba de toxicidad, la variable independiente fue la concentración de los insecticidas buscando establecer un efecto sobre la población de lombrices.
- Variable Dependiente: La mortalidad medida en el tiempo para la obtención de la CL_{50} de los insecticidas en un tiempo de 4 semanas, debido a que el resultado depende de los efectos que el insecticida le ocasiona a la población de lombrices.
- Variables ambientales: Temperatura, pH y humedad.
- Constantes: Tiempo de exposición al toxico (4 semanas).

2. Organismos de prueba

El organismo propuesto por el método de la EPA 712-C-96-167-1996 al que se le aplicó cada insecticida fue la lombriz de tierra *Eisenia foetida* en estado adulto.

Una semana antes de iniciar la prueba experimental las lombrices fueron alimentadas con heces de conejo, posteriormente se vaciaron los intestinos de cada una dejándolas sobre papel filtro en un periodo de 6 horas, para que puedan defecar todo su organismo. Después se lavaron, secaron y pesaron en grupos de 10 sobre una balanza o gramera (ver ilustración 3) [2].

Ilustración 3. Lavado y peso de los organismos.



Fuente: Autoras

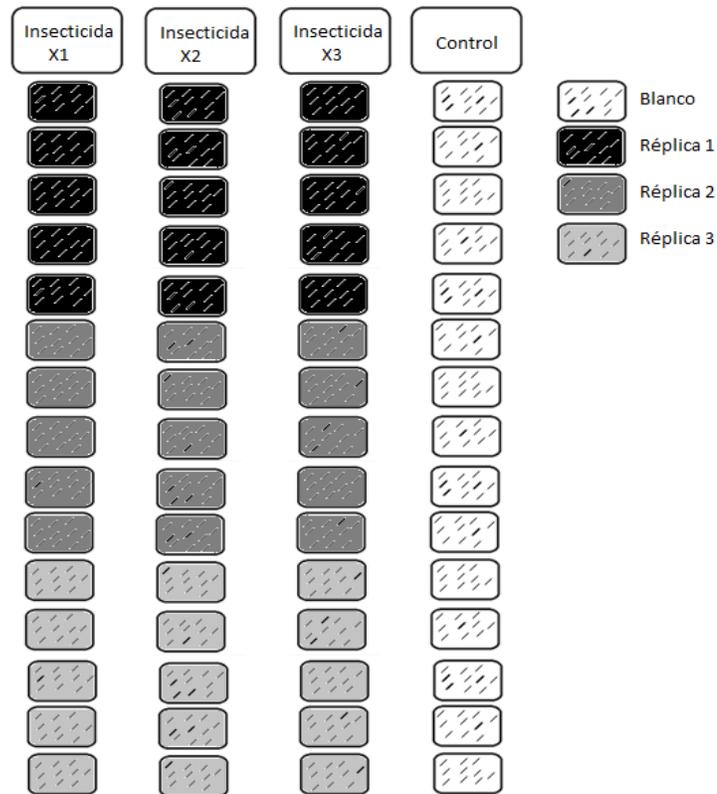
3. Número y distribución de grupos.

Se hizo un montaje experimental, basado en el método de la EPA 712-C-96-167-1996. Para obtener resultados confiables se contó con 3 réplicas por Insecticida y 10 individuos por unidad experimental para un total de 600 organismos.

En la ilustración 4 se ve el tamaño muestral que cuenta con 60 unidades experimentales (15 controles y 5 concentraciones por insecticida, más sus 3 réplicas), con el fin de determinar la CL_{50} .

El control o blanco no tiene ningún tipo de contaminante, esto permite ver que tan confiable es la prueba y tener una mayor precisión.

Ilustración 4. Montaje experimental del ensayo de toxicidad



Fuente: Autoras

Cada unidad experimental tiene la cantidad de 10 individuos adultos escogidos al azar (ver ilustración 5), teniendo en cuenta una distribución aleatoria [2].

Ilustración 5. Selección de los organismos.



Fuente: Autoras

Fueron añadidos 250 gramos de tierra a cada una de las unidades experimentales, estas fueron adecuadas en una base de poliestireno expandido con paredes de cartón, cubiertas con una capa de papel aluminio perforado y tela (lino) (ver ilustración 6), con el fin de mantener la temperatura a un rango entre 20 ± 2 °C, un pH entre 5 y 9 (que se ajustó agregándole carbonato de calcio al suelo) y una humedad entre 35% y 45% (ver ilustración 6.) [2].

Ilustración 6. Adecuación del medio.



Fuente: Autoras.

4. Selección de las concentraciones y grupos

Para la determinación de las concentraciones fue necesario obtener los datos de la DL₅₀ por vía dermal en conejos (debido a que no se encuentra este dato con lombrices), y la densidad de la Tetrametrina. Se prepararon 5 concentraciones para cada insecticida, seleccionándolas entre los valores máximos y mínimos de las dosis a determinar.

Datos Tetrametrina:

DL₅₀: 2000 mg/kg.

ρ : 1,108 g/cm³ → 1,108 g/ml

ρ : Densidad

m: Masa

v: Volumen

- a) Con el fin de hallar la masa se convirtió la DL₅₀ de la Tetrametrina de mg/kg a g/kg.

$$m = 2000 \frac{mg}{kg} \times \frac{1g}{1000mg} = 2g/kg$$

- b) Se determinó el volumen con la densidad de la Tetrametrina y su masa.

$$\rho = \frac{m}{v}$$

$$v = \frac{m}{\rho}$$

$$v = \frac{2 g/kg}{1,108 g/ml} = 1,805 ml /kg$$

- c) Según Repetto para determinar el volumen mínimo de las concentraciones se dividió el volumen obtenido de la DL₅₀ de la Tetrametrina sobre 10 [40].

$$\frac{1,805 \text{ ml/kg}}{10} = 0,180 \text{ ml/kg}$$

- d) Al volumen máximo de la Tetrametrina se le restó el mínimo, y se dividió en 4, con el fin de hallar posteriormente las 5 concentraciones.

$$\frac{1,805 - 0,180}{4} = 0,406 \text{ ml/kg}$$

- e) Para hallar cada concentración se empezó por la segunda, cogiendo la dosis mínima ya calculada más el dato obtenido en el paso 4, esto se repite hasta llegar a la concentración máxima.

- []₁ = 0,180 ml/kg
- []₂ = $0,180 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} + 0,406 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} = 0,586 \text{ ml/kg}$
- []₃ = $0,586 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} + 0,406 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} = 0,992 \text{ ml/kg}$
- []₄ = $0,992 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} + 0,406 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} = 1,398 \text{ ml/kg}$
- []₅ = $1,398 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} + 0,406 \frac{\text{ml}}{\text{kg}} = 1,805 \text{ ml/kg}$

- f) Finalmente se obtienen las 5 concentraciones requeridas para la realización del bioensayo.

- []₁ = 0,180 ml/kg
- []₂ = 0,586 ml/kg
- []₃ = 0,992 ml/kg
- []₄ = 1,398 ml/kg

- $[]_5 = 1,805 \text{ ml/kg}$

5. Elección de la vía de exposición

La vía de exposición de la lombriz *Eisenia foetida* es cutánea o sea los organismos absorben el compuesto por la piel.

Después de la obtención de los rangos de concentraciones (0,180 ml/kg, 0,586 ml/kg, 0,992 ml/kg y 1,805 ml/kg) con el empleo de 3 micropipetas de 200 a 100 μL (para cada insecticida) se midió el volumen para que cada uno de los insecticidas domésticos fuera aplicado en su respectiva unidad experimental (exceptuando los controles) superficialmente con la ayuda de tres frascos con atomizador, previamente lavados (ver ilustración 7). Una vez que se tuvo el suelo preparado con la sustancia los organismos fueron añadidos en grupos de a 10 [2].

Ilustración 7. Aplicación superficial de los insecticidas.



Fuente: Autoras

En este paso se tuvieron en cuenta los parámetros para la manipulación de insecticidas, como lo son el uso de bata, guantes y tapabocas.

6. Periodo de exposición

Después de haber terminado el montaje de la prueba, los contenedores se abrieron a los 7, 14, 21 y 28 días para evaluar la mortalidad de los organismos de cada unidad experimental. Se observó su morfología y se registraron las anomalías.

Por otro lado se midieron se midieron las siguientes variables (ver ilustración 8):

- ✓ Temperatura
- ✓ pH
- ✓ Humedad
- ✓ Peso de las lombrices (grupos de 10)

Ilustración 8. Medición de temperatura, humedad y pH



Fuente: Autoras

Con los datos obtenidos se corroboró si estaban entre los rangos propuestos por el método, de lo contrario se ajustaban las variables a las condiciones requeridas.

Al final de las 4 semanas se contaron los cocones o capullos y las lombrices juveniles que habían nacido en cada unidad experimental, para medir su reproducción (ve ilustración 9).

Ilustración 9. Conteo de lombrices juveniles y cocones.



Fuente: Autoras

7. Análisis de resultados

Después de obtener los resultados letales en un periodo de 28 días, se realizaron las gráficas de mortalidad para cada uno de los insecticidas, mediante el programa R [41], que nos permitió observar como varía la mortalidad de los individuos en cada insecticida respecto a sus concentraciones.

Posteriormente se realizó un análisis de la variación del peso de los individuos respecto al peso inicial, para así observar si las concentraciones de cada insecticida, influían en su comportamiento.

En cuanto a la reproducción, mediante la herramienta Excel se hicieron gráficas para cada insecticida, donde se compararon las concentraciones con el control, analizando si el comportamiento de los individuos varía dependiendo del aumento de la dosis.

Se utilizó una distribución de probabilidad T-Student, ya que el tamaño de la muestra es pequeño y presenta un comportamiento normal; con el fin observar si existían diferencias significativas entre la reproducción en el control y cada uno de los insecticidas.

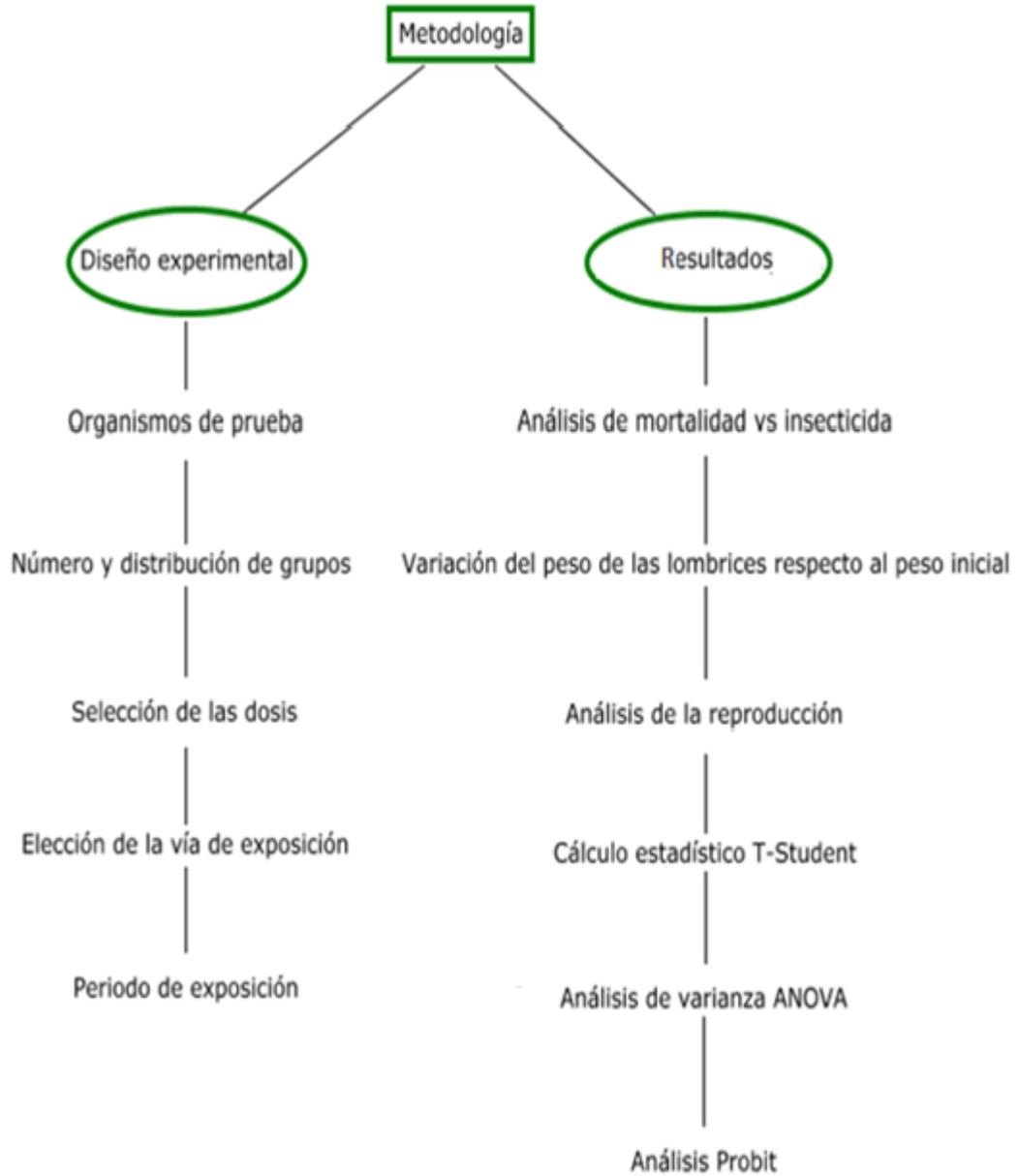
Los datos de mortalidad se analizaron por el método Análisis de Varianza ANOVA, con la finalidad de ver si existían diferencias significativas entre los insecticidas, se eligió este método porque se tomaron variables independientes, de igual varianza y que tenían un comportamiento normal. Para este análisis se usó el programa ProStat, suponiendo que:

Hipótesis nula (H_0): Donde los tres insecticidas son iguales ($I_1=I_2=I_3$).

Hipótesis alternativa (H_1): Donde al menos uno de los tres insecticidas es diferente ($I_1 \neq I_2 \neq I_3$).

Finalmente se realizó el análisis Probit que permite estimar la CL_{50} , con el fin de mirar cual de los tres insecticidas presenta una mayor mortalidad, con relación a la concentración. Este análisis se realizó utilizando el programa ProStat.

8. Diagrama de flujo



Fuente: Autoras

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

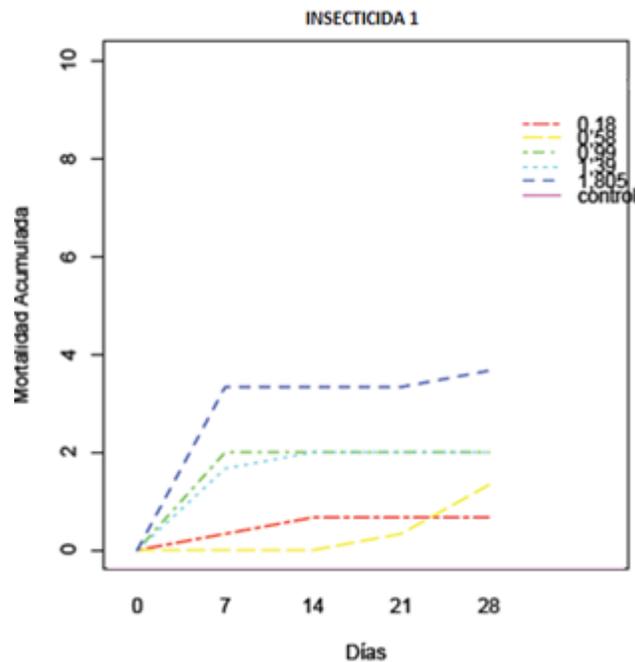
5.1. Análisis de mortalidad vs insecticida.

Para el análisis de mortalidad vs insecticida, se trabajó con los datos del “anexo A”, teniendo en cuenta las concentraciones de los 3 insecticidas de uso doméstico y número de organismos muertos en cada una de sus réplicas.

Análisis Mortalidad Insecticida 1

En la gráfica 1, se puede observar que la concentración que presenta mayor mortalidad acumulada en el transcurso de los 28 días es la que contiene 1,805 ml/Kg, la concentración más alta; la cual tiene un efecto letal a partir del día 7, dejando aproximadamente un 40% de la población sin vida. Las concentraciones más bajas presentaron menores índices de mortalidad acumulada, donde aproximadamente un 1% de los individuos murieron evidenciando un efecto letal entre los días 14 y 21. En general a medida que aumenta la concentración, existen mayores niveles de mortalidad.

Gráfica 1. Mortalidad Acumulada vs Días del insecticida 1

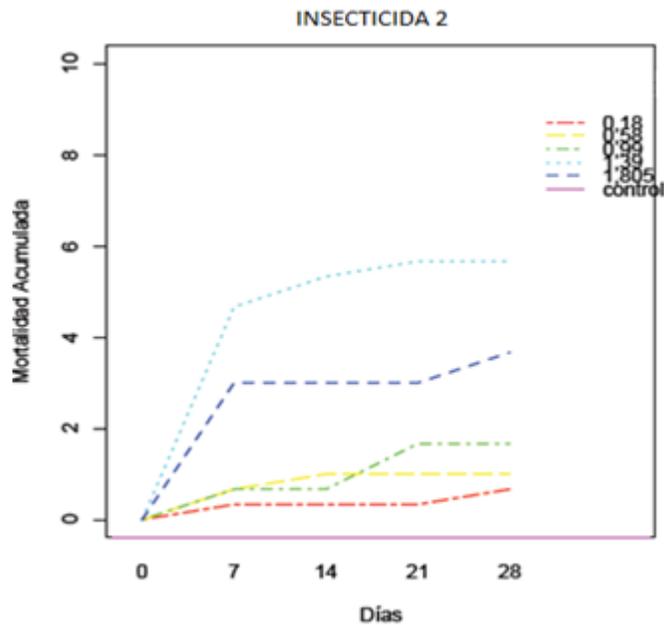


Fuente: Autoras

Análisis Mortalidad Insecticida 2

En la gráfica 2 se puede observar que la concentración con 1,39 ml/Kg presentó mayor mortalidad acumulada, mostrando un efecto letal a partir del día 7, igual que con la concentración de 1,805 ml/Kg; aproximadamente un 60% de la población murió. Las menores concentraciones, 0,18 ml/Kg, 0,58 ml/Kg y 0,99 ml/Kg no presentan mayor mortalidad acumulada, sin embargo se da un efecto letal aproximadamente de un 20% de la población.

Gráfica 2. Mortalidad Acumulada vs Días del insecticida 2

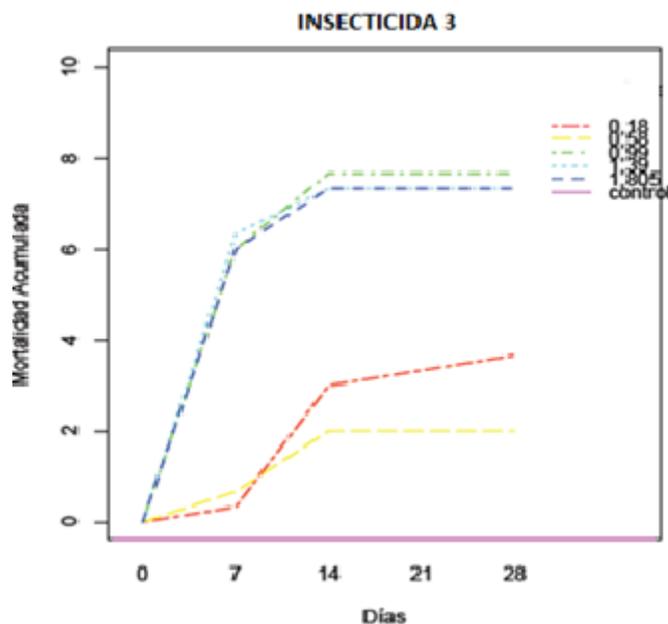


Fuente: Autoras

Análisis Mortalidad Insecticida 3

En la gráfica 3, se puede observar que las tres concentraciones más altas (1,805 ml/Kg, 1,39 ml/Kg y 0,99 ml/Kg) presentan un comportamiento muy similar teniendo un efecto letal a partir del día 7, donde la mortalidad aproximadamente es del 80% de los individuos. Por otro lado las concentraciones más bajas tienen una mortalidad acumulada entre el 20% y 40%.

Gráfica 3. Mortalidad Acumulada vs Días del insecticida 3



Fuente: Autoras

Análisis de mortalidad Insecticida 1, Insecticida 2 y Insecticida 3

Comparando el comportamiento de los tres insecticidas, se observa que el insecticida 2 supera en mortalidad acumulada al insecticida 1, ya que la concentración de 1,39 ml/Kg en el insecticida 1 solo alcanza a matar aproximadamente el 20% de la población, en cambio, el insecticida 2 mata el 60% aproximadamente. Las demás concentraciones presentan prácticamente un comportamiento similar en ambos insecticidas, donde a medida que aumentan se incrementa la mortalidad de los individuos. Por otro lado el insecticida 3 supera en mortalidad acumulada al insecticida 2 y al insecticida 1. A concentraciones de 1,805 ml/Kg, 1,39 ml/Kg y 0,99 ml/Kg el insecticida 3 mata aproximadamente entre el 70% y 80% de los individuos, y a menores concentraciones su efecto letal es similar al porcentaje máximo de individuos que matan los insecticidas 1 y 2.

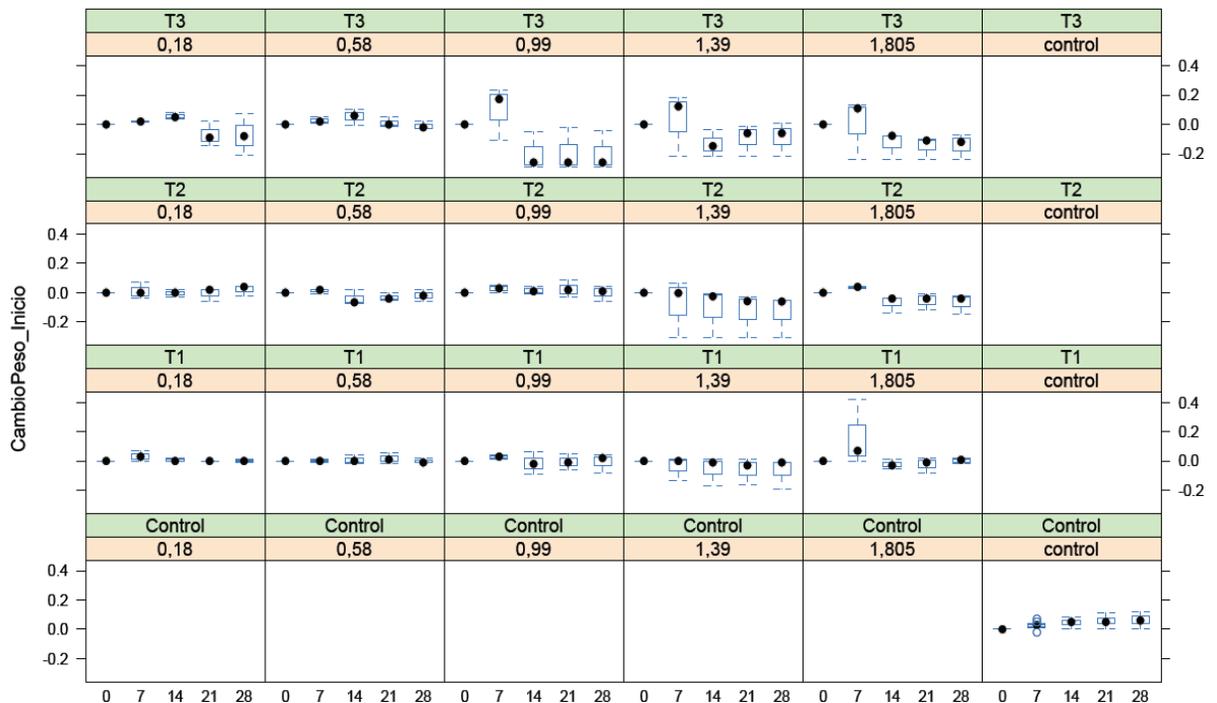
Esto indica que el insecticida 3 es el que presentó una mayor mortalidad acumulada, es decir mató el mayor porcentaje de individuos de la prueba. Cabe mencionar que en el control no se presentaron muertes, osea el bioensayo es valido.

5.2. Variación del peso de las lombrices respecto al peso inicial

El peso de la lombriz se evaluó con el fin de determinar si la toxicidad de los insecticidas influía en la variación del peso de los organismos prueba, ya que existen varios aspectos que pueden influir como: el área donde habitan, el estrés que implica un gasto energético, alimentación y/o cambios en la temperatura, humedad y pH [42].

La gráfica 4 indica que en el control existe una ganancia de peso en los organismos conforme pasa el tiempo; por otro lado el insecticida 1 no presenta cambios significativos las primeras semanas en las concentraciones más bajas, sin embargo a una concentración de 1,805 ml/Kg en el día 7 el peso sube repentinamente y al día 14 vuelve a disminuir. El insecticida 2 presenta una variación del peso significativa con la concentración 1,39 ml/Kg, donde a partir del día 7 hasta el día 28 el peso tiene a bajar. El peso en el insecticida 3 tiende a aumentar repentinamente en el día 7 y disminuye hasta el día 28, a concentraciones de 0,99 ml/Kg, 1,39 ml/Kg y 1,805 ml/Kg.

Gráfica 4. Variación del peso de las lombrices respecto al peso inicial



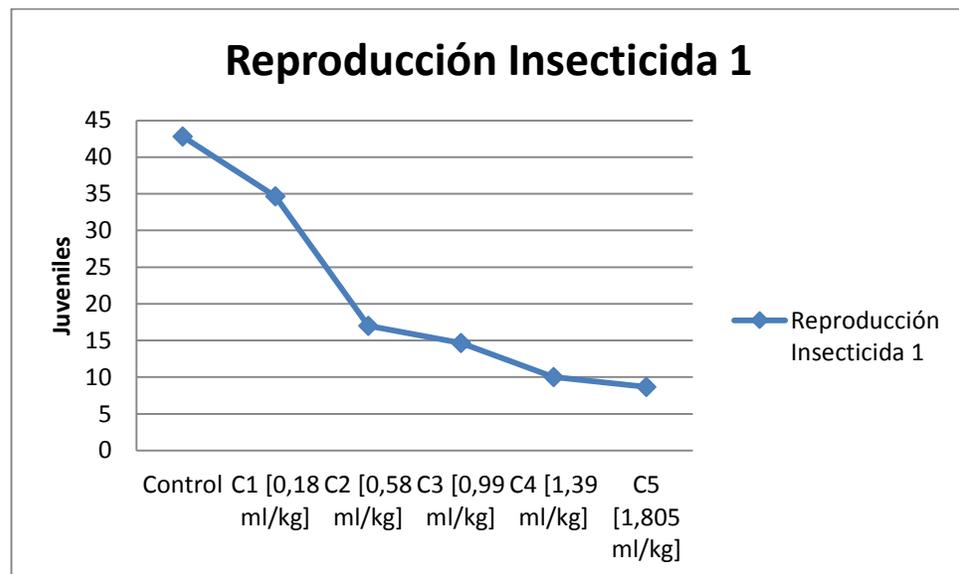
Fuente: Autoras

5.3. Análisis de la reproducción

Para evaluar la reproducción de las lombrices se tuvo en cuenta la cantidad de juveniles que nacieron hasta el día 28. La exposición a los contaminantes a la que esta sometida la lombriz, reduce la tasa reproductiva al disminuir la cantidad de organismos producidos por la especie en estudio [43].

En la gráfica 5, se observa el promedio de la reproducción de las replicas para cada una de las concentraciones del insecticida 1. Donde la reproducción es inversamente proporcional a la concentración, siendo el control el medio donde más organismos nacieron.

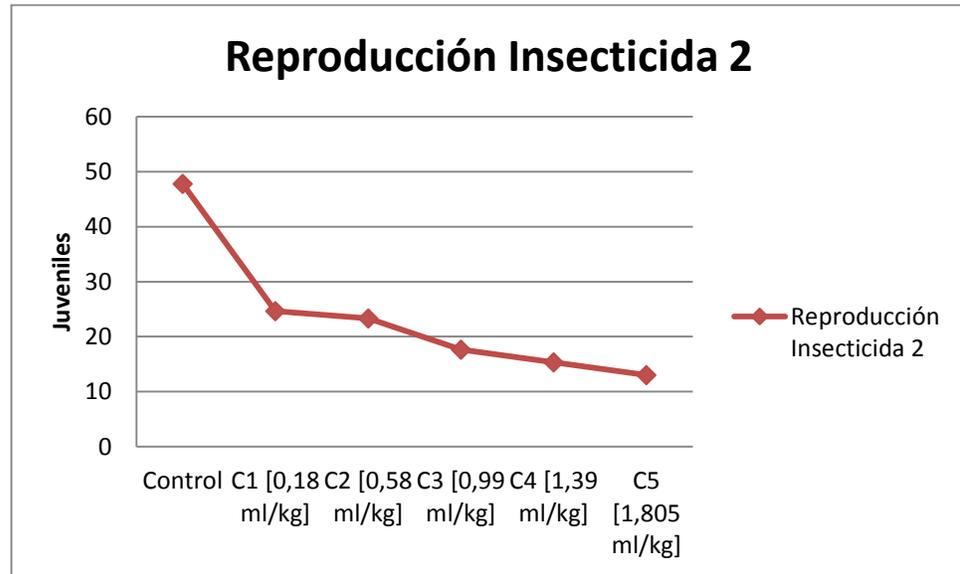
Gráfica 5. Reproducción Insecticida 1



Fuente: Autoras

En la gráfica 6 se puede observar el promedio de la reproducción de las réplicas para cada una de las concentraciones del insecticida 2. La reproducción tiende a disminuir conforme aumenta la concentración, donde el control alcanzó a tener aproximadamente 47,8 nuevos organismos, en comparación con la más alta concentración que obtuvo aproximadamente 13.

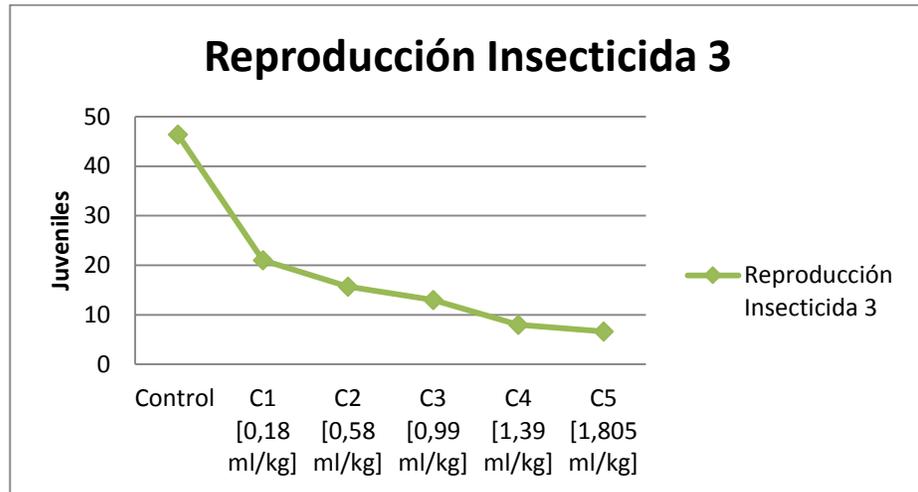
Gráfica 6. Reproducción Insecticida 2



Fuente: Autoras

En la gráfica 7, se puede observar el promedio de la reproducción de las réplicas en cada una de las concentraciones del insecticida 3. La reproducción tiende a disminuir a medida que aumenta la concentración, donde se obtuvieron 46,4 y 6,66 nuevos individuos para el control y la concentración mas alta respectivamente.

Gráfica 7. Reproducción Insecticida 3

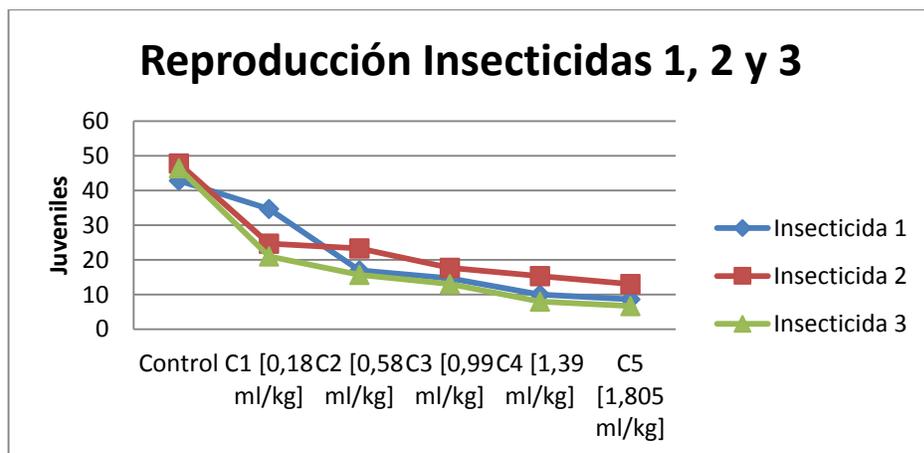


Fuente: Autoras

- **Comparación de la reproducción en el Insecticida 1, Insecticida 2 y Insecticida 3**

El comportamiento de la reproducción en las réplicas de los tres insecticidas tiende a disminuir conforme aumenta la concentración. La cantidad de individuos que nacieron esos días con los insecticidas 1, 2 y 3 fueron de 85, 94 y 64,3 individuos respectivamente, siendo el insecticida 3 el que menos reproducción presento.

Gráfica 8. Reproducción Insecticida 1,2 y 3



Fuente: Autoras

5.4. Cálculo estadístico T-Student

Realizado para evaluar si las diferencias son estadísticamente significativas entre la cantidad de juveniles en el control y cada uno de los insecticidas. Se asumió un nivel de significancia del 5% y un nivel de confianza del 95%.

Tabla 9. Cálculo del estadístico T-Student

	Estadístico t	Valor crítico de t (dos colas)	P(T<=t) dos colas
Control-Insecticida 1	8,06779172	2,055529438	1,50950E-8
Control-Insecticida 2	9,42315242	2,051830516	5,00031E-10
Control-Insecticida 3	11,397914	2,04840714	4,96799E-12

Fuente: Autoras

- **Cálculo T-Student en los insecticidas 1, 2,3 y el Control.**

Mediante el cálculo estadístico T-Student (ver anexo G) se observó que entre el control y cada uno de los insecticidas existen diferencias significativas ya que el P-valor fue menor de 0,05 en cada uno de los casos. Es decir que la diferencia entre la cantidad de juveniles que nacieron hasta finalizar el ensayo, entre el control y cada uno de los insecticidas, tiene relevancia.

5.5. Cálculo del análisis de varianza (ANOVA) y Prueba Tukey

Este cálculo se realizó con los datos de mortalidad acumulada en los tres insecticidas, a diferentes concentraciones, para observar si eran similares o si existían diferencias.

Con el análisis de varianza ANOVA se arrojó un resultado P-valor de 0,0015 (ver anexo H), menor a 0,05. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, justificando que existen diferencias significativas entre los tres insecticidas.

Esto indica que los tres compuestos al tener mismo principio activo están produciendo efectos distintos en los organismos prueba, dando a entender que

este puede no ser el causante principal de la mortandad de los organismos a prueba, sino otros agentes.

Con el la prueba Tukey para la variable de mortalidad se observó entre que insecticidas existían diferencias significativas. En la tabla 11, se muestra que existen diferencias entre el insecticida 3 y los insecticidas 1 y 2; ya que el valor en estos dos casos es mayor a 2,011 que es el HSD (que se hayó con los datos obtenidos en el análisis de varianza observados en la tabla 10). Esto se puede dar debido a que el insecticida 3 en comparación con los insecticidas 1 y 2, presentó una mayor cantidad de mortalidad.

Tabla 10. Análisis de varianza para la prueba Tukey

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	116,0444444	2	58,02222222	7,656891496	0,0015	3,219942293
Dentro de los grupos	318,2666667	42	7,577777778			
Total	434,3111111	44				

Fuente: Autoras

Tabla 11. Comparación mortalidad Insecticidas 1, 2 y 3

SD	I1	I2	I3
I1		-0,6	-3,66666667
I2	0,6		-3,06666667
I3	3,66666667	3,06666667	
HSD=	2,011		

Fuente: Autoras

5.6. Análisis Probit

Para esta investigación se tuvieron en cuenta las lombrices de tierra debido a que no se encuentra reportado este parámetro en las hojas de seguridad de la Tetrametrina. Por otro lado estas son empleadas con frecuencia como organismos de prueba para evaluar la toxicidad en suelos.

Con este análisis se busca mirar cuánta concentración es necesaria para matar a la mitad de la población en estudio, y cuál de los tres insecticidas tiende a ser más tóxico.

En la tabla 12 se observa que para las concentraciones letales de 5,55 ml/Kg, 2,31 ml/Kg y 0,56 ml/Kg existe un porcentaje de mortalidad de 19,33%, 25,33% y 56% respectivamente. A partir de los resultados arrojados para cada uno de los insecticidas, se deduce que el insecticida 3 es aquel que a una menor concentración mata la mayor cantidad de población, prácticamente el doble que el insecticida 2 y el triple en comparación con el insecticida 1.

Tabla 12. Concentración letal 50 (CL₅₀) Insecticidas 1,2 y3.

Insecticida	CL₅₀ (ml/Kg)	Mortalidad (%)
Insecticida 1	5,556	19,33
Insecticida 2	2,317	25,33
Insecticida 3	0,568	56

Fuente: Autoras

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en la prueba toxicológica, se concluye lo siguiente:

- El análisis de mortalidad vs insecticida, permite observar que el insecticida que presenta una mayor mortalidad acumulada es el insecticida 3, donde aproximadamente un 80% de la población murió. Dado a que los tres insecticidas comparten un mismo principio activo y teniendo en cuenta que la composición química de la Tetrametrina en el insecticida 3 está en menor porcentaje que en los insecticidas 1 y 2, puede interpretarse que posiblemente el principio activo no es el causante de la mortalidad presentada y que esto puede ser atribuido a la existencia de excipientes o adyuvantes más tóxicos que este.
- Aparentemente no existe un efecto tóxico inmediato o agudo producido por los tres insecticidas utilizados, a concentraciones más altas se evidenciaron muertes a partir del día 7. Esto puede indicar que hay una intoxicación subcrónica, dado que el tiempo de exposición fue de 28 días y el efecto se manifestó en un periodo prolongado.
- Al obtener los resultados del método Probit, se demostró que la CL_{50} de los tres insecticidas tiene relación con los análisis estadísticos realizados. Se deduce que el insecticida 3 es el que presenta un mayor efecto tóxico, ya que a pequeñas concentraciones mata al 56% de la población, prácticamente el doble que el insecticida 2 y el triple en comparación con el insecticida 1.
- El peso varió drásticamente a altas concentraciones, principalmente en el insecticida 3. Es probable que esto se haya dado, porque a la semana 7 las lombrices consumieron casi en su totalidad el alimento que había en el sustrato y bajaron de peso por su escasez.

- La dosis suministrada puede llegar a afectar el ciclo de vida de los individuos, dado que durante el tiempo de exposición los organismos se reprodujeron significativamente, sin embargo, a medida que aumentaban las concentraciones su tasa reproductiva disminuyó. Siendo el insecticida 3 el que menor reproducción presentó.
- El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), encargado de verificar los estándares mínimos y el impacto en la salud que pueden tener los insecticidas evaluados, los clasifica como tóxicos clase III, a pesar de que los resultados obtenidos indican que la mortalidad varía significativamente de un insecticida a otro, y no todo el efecto tóxico puede ser atribuido al principio activo en común.
- Teniendo en cuenta los posibles efectos tóxicos por el uso indiscriminado de los insecticidas domésticos, se observó un vacío notable en la legislación nacional vigente frente a este tipo de insecticidas en relación con los de uso agrícola, en comparación con países como México y Estados Unidos.

7. RECOMENDACIONES

- Los insecticidas de uso doméstico evaluados en la prueba toxicológica, deben tener una mayor reglamentación, dado que los resultados mostraron que estos tienden a provocar intoxicación en periodos prolongados de uso frecuente e indiscriminado.
- Se recomienda que los laboratorios de la Universidad Santo Tomás, cuenten con las condiciones e implementos necesarios para la realización de bioensayos. Esto permitirá incentivar la investigación por parte de sus estudiantes.
- Para futuros estudios de esta índole es importante tener un control diario de todos los parámetros, con el fin de obtener datos que arrojen mayor exactitud.
- Es conveniente la elaboración de un protocolo que contemple el almacenamiento, transporte, manipulación y disposición de residuos tóxicos, durante el desarrollo de trabajos de investigación de este tipo.
- Se recomienda a las Autoridades Ambientales no aprobar el comercio libre de insecticidas de uso domestico evaluando solo el principio activo, si no también, teniendo en cuenta los excipientes o adyuvantes que contengan; ya que estos también tienen incidencia en su toxicidad.
- Este estudio se podría complementar analizando la variación del peso de los organismos con mayor precisión, evaluando más concentraciones e insecticidas de uso doméstico.
- Para la aplicación de los insecticidas domésticos, es necesario tener normas mínimas de seguridad en los hogares, debido a que con la investigación se observó que su uso prolongado puede llegar a causar intoxicación.

- Se sugiere extender este estudio con otros insecticidas que contengan el mismo principio activo, evaluando además los excipientes y coadyuvantes.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Observatorio Latinoamericano de Conflictos Ambientales, «OLCA,» s.f. [En línea]. Available: <http://www.olca.cl/oca/plaguicidas/cartilla2.html>. [Último acceso: 2014].
- [2] Environmental Protection Agency, «National Service Center for Environmental Publications (NSCEP),» 1996. [En línea]. Available: <http://nepis.epa.gov/>. [Último acceso: 2014].
- [3] Corporación por el desarrollo de las ciencias ambientales, «CODECIAM,» s.f. [En línea]. Available: <http://www.codeciam.org/>. [Último acceso: 2014].
- [4] J. Thomson, C. Justo y P. Gonzáles, «Evaluación de la supervivencia y crecimiento de *Eisenia fetida*,» Guadalajara, México, 2008.
- [5] A. Edwards, Q. Arancon, M. Vasko, B. Little y A. Askar, «The relative toxicity of metaldehyde and iron phosphate-based molluscicides to earthworms,» Ohio, EEUU, 2008.
- [6] Food and Agriculture Organization (FAO), «Actualización del Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas,» Roma, Italia, 2012.
- [7] D. Sorlí y D. Navarro, «Principios básicos de la protección fitosanitaria,» Valencia, España, s.f.
- [8] I. Morell, Plaguicidas: aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos, Castelló de la Plana, España: Castelló D'Impressió,S.L, 1998.
- [9] R. Benítez, «Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: Un estado del arte,» *SERPAJ PY*, p. 17, 2012.
- [10] J. Ramirez y M. Lacasaña, «Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición,» Cuernavaca, México, 2001.
- [11] L. Calva y M. Torres, «<http://www.izt.uam.mx/>,» 1998. [En línea]. Available: <http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n30ne/pdf/plaga.pdf>. [Último acceso:

2014].

- [12] D. Sánchez, «<http://es.slideshare.net/>,» 2008. [En línea]. Available: <http://es.slideshare.net/DayanisSanchez1/plaguicidas-24788413>. [Último acceso: 2014].
- [13] F. Jaramillo, «Los plaguicidas y sus riesgos,» *Investigación y Ciencia*, pp. 1-5, 1990.
- [14] International Programme on Chemical Safety (IPCS), The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guides to Classification 2009, Alemania: World Health Organization, 2009.
- [15] A. Sánchez, Conceptos básicos de gestión ambiental y desarrollo sustentable, México: SEMARNAT, 2011.
- [16] P. Junquera, «Parasipedia,» 07 05 2013. [En línea]. Available: http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2266&Itemid=2528. [Último acceso: 2014].
- [17] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, «Datos de identificación Tetrametrina,» México D.F, s.f.
- [18] Grupo la Mejorana S.A, «<http://agrologico.com/>,» s.f. [En línea]. Available: <http://agrologico.com/al/pdf/zapi/Zapicida%20Giallo/Zapicida%20Giallo-1.pdf>. [Último acceso: 2014].
- [19] M. García, Manual cría de la lombriz de tierra: una alternativa ecológica y rentable, Bogotá, D.C: San Pablo, 2005.
- [20] Granie's worms lombricultura, «My Gardening Page,» s.f. [En línea]. Available: <http://graniesworms.s5.com/about.html>. [Último acceso: 2014].
- [21] C. Ortigosa, «www.compostadores.com,» s.f. [En línea]. Available: <http://www.compostadores.com/h/biodiversidad/anatomia-y-fisiologia-de-la-lombriz-roja>. [Último acceso: 2014].
- [22] Anónimo, «Inversanet,» 2011. [En línea]. Available: <https://inversanet.wordpress.com/>. [Último acceso: 2014].
- [23] L. Guerrero, «Vida verde,» s.f. [En línea]. Available: <http://vidaverde.about.com> .
- [24] W. Landis, «Universidad Nacional Abierta y a Distancia,» 2003. [En línea]. Available:

<http://datateca.unad.edu.co/>. [Último acceso: 2014].

- [25] C. Barros y V. Gamez, «Determinación de la concentración letal media (CL50-60) del Glifosfato Roundup 747SG, por medio de bioensayos utilizando alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*),» Universidad de la Salle, Bogotá D.C, 2008.
- [26] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, «Resolución 2713 del 2006,» Colombia, 2006.
- [27] Auditoría General de la República, «Revista Virtual Redesma,» 2004. [En línea]. Available: <http://revistavirtual.redesma.org/>. [Último acceso: 2014].
- [28] J. Figueruelo, Química física del ambiente y de los procesos medioambientales, Barcelona, España: REVERTÉ.S.A., 2004.
- [29] G. Castillo, «Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas,» México, D.C, 2004.
- [30] Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Introducción al análisis de riesgos ambientales, México D.F: Ize, I; Zuk, M; Rojas, L, 2010.
- [31] M. Repetto y P. Sanz, «Asociación española de toxicología,» 1993. [En línea]. Available: <http://www.aetox.es/>. [Último acceso: 2014].
- [32] J. Bello y A. López, Fundamentos de ciencia toxicológica, Madrid, España: Diaz de Santos, 2001.
- [33] N. Fraume, Diccionario Ambiental, Ecoe Ediciones, 2007.
- [34] E. Arribas y F. Bandrés, Toxicología Clínica y Drogodependencias: Metadona, Madrid, España: ADEMÁS, comunicación Gráfica, s.l , 2009.
- [35] Universidad Santo Tomás, «Universidad Santo Tomás,» [En línea]. Available: <http://www.usta.edu.co> . [Último acceso: 2014].
- [36] Carlos Alban Holguin I.E.D, «Instituto distrital Carlos Alban Holguin,» [En línea]. Available: <http://www.cah.edu.co/>. [Último acceso: 2014].
- [37] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, «www.minambiente.gov.co,» [En línea]. Available: <https://www.minambiente.gov.co/index.php>. [Último acceso: 2014].
- [38] Ministerio de Salud y Protección Social, «Min Salud, Ministerio de Salud y Protección

- Social,» [En línea]. Available: <http://www.minsalud.gov.co/>. [Último acceso: 2014].
- [39] OMS, «Organización Mundial de la Salud,» [En línea]. Available: <http://www.who.int/es/>. [Último acceso: 2014].
- [40] Repetto, Toxicología Fundamental, Sevilla, España: Diaz de Santos, 2009.
- [41] R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, «R-project,» 2013. [En línea]. Available: <http://www.R-project.org>. [Último acceso: 2014].
- [42] M. Schuld, «Manual de Lombricultura,» 27 08 2002. [En línea]. Available: www.manualdelombricultura.com. [Último acceso: 2015].
- [43] Mendoza, «Monitoreo de suelos contaminados mediante pruebas ecotoxicológicas,» *Tatlemoani: Revista académica de investigación*, 2012.

9. ANEXOS

ANEXO A

REGISTRO DE DATOS DÍA 0

Día	Plaguicida	Concentración	pH	Temperatura	Peso de Lombrices	Mortalidad
0	Control	control 1	8,6	20	3,3	0
0	Control	control2	8,65	19,9	3,1	0
0	Control	control 3	8,7	20,1	2,9	0
0	Control	control 4	8,75	19,8	3,2	0
0	Control	control 5	8,68	19	2,4	0
0	Control	control 6	8,78	18,7	3,1	0
0	Control	control 7	8,85	18,7	3	0
0	Control	control 8	8,82	19,1	2,8	0
0	Control	control 9	8,79	18,3	2,8	0
0	Control	control 10	8,8	18,6	2,7	0
0	Control	control 11	8,74	19,4	2,8	0
0	Control	control 12	8,93	19,6	3,2	0
0	Control	control 13	8,33	19	3,2	0
0	Control	control 14	8,6	19,4	3	0
0	Control	control 15	7,6	18,7	2,9	0
0	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,72	20,1	3,1	0

0	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,95	19	2,5	0
0	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,2	19,7	2,8	0
0	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,7	19,7	2,8	0
0	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,92	18,6	3,1	0
0	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,6	19,7	3,4	0
0	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,69	19,9	2,4	0
0	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,91	18,2	2,7	0
0	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,34	20,6	2,7	0
0	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,7	19,8	3,1	0
0	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,91	18,3	2,7	0
0	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,65	19,4	3,1	0
0	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,75	20,3	3,3	0
0	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,9	18,7	2,8	0
0	I1	C5 [1,805 ml/kg]	7,93	19,4	2,7	0
0	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,74	20,1	3,6	0
0	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,89	19,6	3	0
0	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,56	18,7	2,5	0
0	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,78	19,8	3,3	0
0	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,86	18,7	3,1	0
0	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,62	19,7	3,1	0
0	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,77	20,1	2,6	0
0	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,86	18,9	2,7	0
0	I2	C3 [0,99 ml/kg]	7,85	19,9	2,6	0

0	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,79	20,1	3,6	0
0	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,87	19,1	3,1	0
0	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,34	18,6	2,8	0
0	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,76	19,9	3,1	0
0	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,88	18	2,6	0
0	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,62	19,4	3,5	0
0	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,8	19,8	3,5	0
0	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,87	19,8	2,9	0
0	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,46	19,7	3,2	0
0	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,83	19,9	3,6	0
0	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,87	19,8	2,5	0
0	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,43	18,3	3,4	0
0	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,82	19,8	3,6	0
0	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,86	20,3	2,6	0
0	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,38	19,6	2,9	0
0	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,8	19,9	3,1	0
0	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,87	19,6	2,2	0
0	I3	C4 [1,39 ml/kg]	7,35	18,3	2,7	0
0	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,81	20,1	3,1	0
0	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,86	19,1	2,4	0
0	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,26	18,3	2,9	0

Fuente: Autoras

Réplica 1	I1
Réplica 2	I2
Réplica 3	I3

ANEXO B
REGISTRO DE DATOS DÍA 7

Día	Plaguicida	Concentración	pH	Temperatura	Peso de Lombrices	Mortalidad
7	Control	control 1	8,63	18,6	3,5	0
7	Control	control2	8,71	18	3,4	0
7	Control	control 3	8,77	18,2	3,3	0
7	Control	control 4	8,76	18,2	3,4	0
7	Control	control 5	8,7	18,3	2,7	0
7	Control	control 6	8,5	18,6	3,4	0
7	Control	control 7	8,34	18,6	3,1	0
7	Control	control 8	8,2	19,8	3,5	0
7	Control	control 9	8,46	20,3	3,3	0
7	Control	control 10	8,73	19,7	3	0
7	Control	control 11	8,74	19,3	3	0
7	Control	control 12	8,84	19,8	3,5	0
7	Control	control 13	8,35	18,7	3	0
7	Control	control 14	8,89	19,4	3,3	0
7	Control	control 15	7,75	19,3	3,2	0
7	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,72	20,1	3,4	0
7	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,53	21	2,9	1
7	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,2	19,7	2,8	0

7	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,7	19,7	2,7	0
7	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,55	19,7	3,2	0
7	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,6	19,7	3,4	0
7	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,69	19,9	2,5	0
7	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,44	18,8	1,8	4
7	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,34	20,6	2,5	2
7	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,7	19,8	2,9	1
7	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,64	20,1	0,8	4
7	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,65	19,4	3,1	0
7	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,75	20,3	2,8	3
7	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,81	19,7	2,1	7
7	I1	C5 [1,805 ml/kg]	7,93	19,4	2,7	0
7	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,77	19	3,9	1
7	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,53	18,6	2,6	0
7	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,56	18,7	2,5	0
7	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,79	18,3	3,5	0
7	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,8	19,4	2,4	2
7	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,66	20	3,3	0
7	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,8	18,8	3,1	0
7	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,81	20,1	2,4	2
7	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,21	20,2	2,6	0
7	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,81	18,5	3	3
7	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,78	19,4	0	10

7	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,33	19,6	2,5	1
7	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,81	18,2	2,8	2
7	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,76	18,5	1,2	6
7	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,62	19,7	3,4	1
7	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,83	18,3	3,7	0
7	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,77	20,8	3,1	0
7	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,55	19,4	3	1
7	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,85	19	3,7	0
7	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,72	20,1	2,4	2
7	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,56	18,7	3,6	0
7	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,84	19,2	3,2	4
7	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,85	19,5	0,3	8
7	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,52	19,3	2,1	6
7	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,84	19,1	2,6	4
7	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,64	20,3	0	9
7	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,02	18,7	1,8	6
7	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,83	18,9	2,2	5
7	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,68	19,4	0	9
7	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,43	19,3	2,4	4

Fuente: Autoras

Réplica 1	I1
Réplica 2	I2
Réplica 3	I3

ANEXO C

REGISTRO DE DATOS DÍA 14

Día	Plaguicida	Concentración	pH	Temperatura	Peso de Lombrices	Mortalidad
14	Control	control 1	8,82	19	3,6	0
14	Control	control2	8,82	18,9	3,8	0
14	Control	control 3	8,85	18,7	3,5	0
14	Control	control 4	8,85	18,8	3,8	0
14	Control	control 5	8,83	18	3,2	0
14	Control	control 6	8,57	19,3	3,6	0
14	Control	control 7	8,32	19	3,4	0
14	Control	control 8	8,93	20,4	3,3	0
14	Control	control 9	8,74	19,6	3,6	0
14	Control	control 10	8,84	19,7	3,2	0
14	Control	control 11	8,67	19,5	3,1	0
14	Control	control 12	8,81	19,3	3,2	0
14	Control	control 13	8,45	19,1	3,4	0
14	Control	control 14	8,53	19,4	3,7	0
14	Control	control 15	8,23	18,7	3,2	0
14	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,83	19	3,1	0
14	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,62	19,3	2,7	0
14	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,26	19,9	2,7	1

14	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,82	19	3,2	0
14	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,87	19,5	2,9	0
14	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,76	19,4	3,4	0
14	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,81	19	3	0
14	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,86	19,1	1,8	0
14	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,45	19,8	2,5	0
14	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,81	19,1	2,9	1
14	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,84	19,6	1	0
14	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,09	19,3	3	0
14	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,82	19	3	0
14	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,86	19,4	2,3	0
14	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,32	19,8	2,8	0
14	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,79	19,1	3,6	0
14	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,85	18,3	2,7	0
14	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,73	19,6	2,7	0
14	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,8	18,5	2,6	0
14	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,85	18,6	2,2	1
14	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,82	19,8	3,3	0
14	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,79	18,7	3	0
14	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,81	19,5	2,6	0
14	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,9	19,9	2,7	0
14	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,78	18,6	3,2	1
14	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,79	18,6	0	0

14	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,54	20,3	2,3	1
14	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,79	19	2,7	0
14	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,83	18,3	1,2	0
14	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,35	19,4	3,1	0
14	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,8	19	4	0
14	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,8	18,2	2,3	3
14	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,63	19,7	2	5
14	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,79	19,4	4,2	0
14	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,77	20	2,2	1
14	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,56	19,2	3,1	3
14	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,8	19	3,1	0
14	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,75	18,6	0	1
14	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,76	19,5	0	4
14	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,8	19,1	2,2	2
14	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,74	19,3	0	0
14	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,23	19,6	1,1	1
14	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,79	19,2	2,1	1
14	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,78	19,5	0	1
14	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,67	19,7	1,7	2

Fuente: Autoras

Réplica 1	I1
Réplica 2	I2
Réplica 3	I3

ANEXO D
REGISTRO DE DATOS DÍA 21

Día	Plaguicida	Concentración	pH	Temperatura	Peso de Lombrices	Mortalidad
21	Control	control 1	8,83	18,5	3,8	0
21	Control	control2	8,84	18,8	3,7	0
21	Control	control 3	8,86	18	3,6	0
21	Control	control 4	8,87	19	3,7	0
21	Control	control 5	8,87	19,1	3,5	0
21	Control	control 6	8,75	18,5	3,5	0
21	Control	control 7	8,53	19,4	3,7	0
21	Control	control 8	8,81	19,2	3,3	0
21	Control	control 9	8,89	19,5	3,9	0
21	Control	control 10	8,42	19,5	3,5	0
21	Control	control 11	8,32	19,6	3,2	0
21	Control	control 12	8,92	18,4	3,5	0
21	Control	control 13	8,53	19,5	3,2	0
21	Control	control 14	8,47	19,6	4,1	0
21	Control	control 15	8,39	19	3,2	0
21	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,88	19	3,1	0
21	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,8	18,9	2,5	0
21	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,31	20,2	2,5	0

21	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,9	18,5	3	1
21	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,88	19,4	2,9	0
21	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,82	19,7	3,5	0
21	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,9	18,6	2,9	0
21	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,81	18,7	2,1	0
21	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,54	19,2	2,6	0
21	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,9	19	2,8	0
21	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,93	19,4	1,1	0
21	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,22	19,5	3,2	0
21	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,8	18,7	3,5	0
21	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,83	18,7	2	0
21	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,76	19,3	2,6	0
21	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,8	18,5	3,8	0
21	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,87	18,5	2,4	0
21	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,83	19,2	2,7	0
21	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,8	19,2	2,8	0
21	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,91	18,4	2,7	0
21	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,86	20	3,1	0
21	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,85	18,6	3,1	1
21	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,84	19,4	1,9	2
21	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,76	19,5	2,8	0
21	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,82	19,2	3,3	0
21	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,87	19,3	0	0

21	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,6	19,5	2	1
21	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,85	19,3	2,7	0
21	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,91	18,8	1,4	0
21	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,55	19,3	3,4	0
21	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,84	19,7	3,7	0
21	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,91	18,7	1,3	1
21	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,72	19,4	2,3	0
21	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,79	19	4,1	0
21	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,83	19,5	2,5	0
21	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,77	19,6	3,3	0
21	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,82	19	3,4	0
21	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,75	18,6	0	0
21	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,82	19,4	0	0
21	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,81	18,7	3	0
21	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,81	18,7	0	0
21	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,33	19,2	2,1	0
21	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,81	19,4	2	0
21	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,83	19,1	0	0
21	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,75	19,8	1,9	0

Fuente: Autoras

Réplica 1	I1
Réplica 2	I2
Réplica 3	I3

ANEXO E
REGISTRO DE DATOS DÍA 28

Día	Plaguicida	Concentración	pH	Temperatura	Peso de Lombrices	Mortalidad
28	Control	control 1	8,87	20	3,7	0
28	Control	control2	8,85	20,1	3,4	0
28	Control	control 3	8,89	19,5	3,7	0
28	Control	control 4	8,88	20,1	3,8	0
28	Control	control 5	8,89	19,1	3,5	0
28	Control	control 6	8,52	19,3	3,5	0
28	Control	control 7	8,63	19,2	3,4	0
28	Control	control 8	8,92	19,7	3,8	0
28	Control	control 9	8,73	19,9	4	0
28	Control	control 10	8,65	19,1	3,8	0
28	Control	control 11	8,45	19,8	3,3	0
28	Control	control 12	8,78	19	3,6	0
28	Control	control 13	8,63	19,7	3,2	0
28	Control	control 14	8,58	19,3	3,8	0
28	Control	control 15	8,45	19,8	3,5	0
28	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,89	19,5	3	0
28	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,86	19,2	2,6	0
28	I1	C1 [0,18 ml/kg]	8,22	19,4	2,3	0

28	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,91	19,7	2,7	0
28	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,9	19,5	2,3	3
28	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8,84	19,2	3,3	0
28	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,92	19,2	2,8	0
28	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,87	19,4	1,9	0
28	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8,62	19,3	2,9	0
28	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,91	19,7	3	0
28	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,83	19,7	0,8	0
28	I1	C4 [1,39 ml/kg]	8,36	19,3	3	0
28	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,87	19,6	3,5	0
28	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,82	19,2	2,6	0
28	I1	C5 [1,805 ml/kg]	8,81	19,7	2,5	1
28	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,85	19,9	3,6	1
28	2	C1 [0,18 ml/kg]	8,87	18,5	2,8	0
28	I2	C1 [0,18 ml/kg]	8,42	19,7	2,9	0
28	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,87	19,7	3,1	0
28	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,94	19	2,5	0
28	I2	C2 [0,58 ml/kg]	8,9	19,2	3,3	0
28	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,93	19,6	3	0
28	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,98	19,9	2,1	0
28	I2	C3 [0,99 ml/kg]	8,76	19,3	2,7	0
28	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,86	20	3,1	0
28	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,84	19,7	0	0

28	I2	C4 [1,39 ml/kg]	8,72	19,4	2,2	0
28	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,87	19,3	2,7	0
28	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,9	19,2	0,9	2
28	I2	C5 [1,805 ml/kg]	8,45	19,8	3,3	0
28	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,88	20	3,8	1
28	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,96	19,2	0,8	0
28	I3	C1 [0,18 ml/kg]	8,84	19,5	2,4	0
28	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,87	19	3,8	0
28	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,84	19,7	2,2	0
28	I3	C2 [0,58 ml/kg]	8,7	19,6	3,2	0
28	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,85	19,9	3,2	0
28	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,83	19,2	0	0
28	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8,87	19,7	0	0
28	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,87	19,6	3,2	0
28	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,65	18,9	0	0
28	I3	C4 [1,39 ml/kg]	8,32	19,3	2,1	0
28	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,9	20,2	2,4	0
28	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,89	19,3	0	0
28	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8,83	19,5	1,7	0

Fuente: Autoras

Réplica 1	I1
Réplica 2	I2
Réplica 3	I3

ANEXO F
REGISTRO DE DATOS DE REPRODUCCIÓN

Código de Muestra	Plaguicida	Concentración	Cocones	Juveniles	Total
1	Control	control 1	36	47	83
2	Control	control2	41	45	86
3	Control	control 3	37	39	76
4	Control	control 4	42	46	88
5	Control	control 5	29	37	66
6	Control	control 6	39	31	70
7	Control	control 7	54	66	120
8	Control	control 8	21	43	64
9	Control	control 9	35	43	78
10	Control	control 10	23	56	79
11	Control	control 11	34	45	79
12	Control	control 12	36	47	83
13	Control	control 13	38	43	81
14	Control	control 14	31	53	84
15	Control	control 15	32	44	76
16	I1	C1 [0,18 ml/kg]	12	31	43
17	I1	C1 [0,18 ml/kg]	26	45	71
18	I1	C1 [0,18 ml/kg]	9	28	37

19	I1	C2 [0,58 ml/kg]	12	22	34
20	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8	17	25
21	I1	C2 [0,58 ml/kg]	8	12	20
22	I1	C3 [0,99 ml/kg]	17	19	36
23	I1	C3 [0,99 ml/kg]	14	4	18
24	I1	C3 [0,99 ml/kg]	8	21	29
25	I1	C4 [1,39 ml/kg]	13	9	22
26	I1	C4 [1,39 ml/kg]	1	10	11
27	I1	C4 [1,39 ml/kg]	4	11	15
28	I1	C5 [1,805 ml/kg]	10	12	22
29	I1	C5 [1,805 ml/kg]	3	7	10
30	I1	C5 [1,805 ml/kg]	9	7	16
31	I2	C1 [0,18 ml/kg]	20	25	45
32	I2	C1 [0,18 ml/kg]	18	29	47
33	I2	C1 [0,18 ml/kg]	16	32	48
34	I2	C2 [0,58 ml/kg]	15	26	41
35	I2	C2 [0,58 ml/kg]	7	25	32
36	I2	C2 [0,58 ml/kg]	12	19	31
37	I2	C3 [0,99 ml/kg]	16	18	34
38	I2	C3 [0,99 ml/kg]	6	19	25
39	I2	C3 [0,99 ml/kg]	10	16	26
40	I2	C4 [1,39 ml/kg]	11	15	26
41	I2	C4 [1,39 ml/kg]	4	9	13

42	I2	C4 [1,39 ml/kg]	17	22	39
43	I2	C5 [1,805 ml/kg]	11	17	28
44	I2	C5 [1,805 ml/kg]	3	8	11
45	I2	C5 [1,805 ml/kg]	13	14	27
46	I3	C1 [0,18 ml/kg]	26	15	41
47	3	C1 [0,18 ml/kg]	8	23	31
48	I3	C1 [0,18 ml/kg]	11	25	36
49	I3	C2 [0,58 ml/kg]	18	12	30
50	I3	C2 [0,58 ml/kg]	19	8	27
51	I3	C2 [0,58 ml/kg]	12	27	39
52	I3	C3 [0,99 ml/kg]	15	17	32
53	I3	C3 [0,99 ml/kg]	14	6	20
54	I3	C3 [0,99 ml/kg]	8	16	24
55	I3	C4 [1,39 ml/kg]	9	13	22
56	I3	C4 [1,39 ml/kg]	9	5	14
57	I3	C4 [1,39 ml/kg]	2	6	8
58	I3	C5 [1,805 ml/kg]	8	10	18
59	3	C5 [1,805 ml/kg]	6	3	9
60	I3	C5 [1,805 ml/kg]	5	7	12

Fuente: Autoras

Réplica 1	I1
Réplica 2	I2
Réplica 3	I3

ANEXO G

REGISTRO DE DATOS T-STUDENT PARA DOS VARIANZAS DESIGUALES

Insecticida 1	Variable 1	Variable 2
Media	45,6666667	17
Varianza	66,952381	122,428571
Observaciones	15	15
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	26	
Estadístico t	8,06779172	
P(T<=t) una cola	7,5475E-09	
Valor crítico de t (una cola)	1,70561792	
P(T<=t) dos colas	1,5095E-08	
Valor crítico de t (dos colas)	2,05552944	
Insecticida 2	Variable 1	Variable 2
Media	45,6666667	19,6
Varianza	66,952381	47,8285714
Observaciones	15	15
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	27	
Estadístico t	9,42315242	
P(T<=t) una cola	2,5002E-10	
Valor crítico de t (una cola)	1,70328845	
P(T<=t) dos colas	5,00E-10	
Valor crítico de t (dos colas)	2,05183052	
Insecticida 3	Variable 1	Variable 2
Media	45,6666667	12,8666667
Varianza	66,952381	57,2666667
Observaciones	15	15
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	28	
Estadístico t	11,397914	
P(T<=t) una cola	2,484E-12	
Valor crítico de t (una cola)	1,70113093	

P(T<=t) dos colas	4,97E-12	
Valor crítico de t (dos colas)	2,04840714	

Fuente: Autoras

ANEXO H

REGISTRO DE DATOS ANÁLISIS DE VARIANZA ANOVA

=====

ANOVA Statistics Report

Data File Name: Untitled1

=====

Selected data range from: 2
to: 16

Selected data columns:

Column2: Mean=1.933333, Variance=3.923810, StdDev=1.980861

Column3: Mean=2.533333, Variance=9.123810, StdDev=3.020564

Column4: Mean=5.600000, Variance=9.685714, StdDev=3.112188

=====

One-Way ANOVA

Source	DF	SumOfSq	MeanOfSq	F-Value	P-Value
--------	----	---------	----------	---------	---------

=====

===

Between Groups	2	116.0444	58.0222	7.6569	0.0015
Within Groups	42	318.2667	7.5778		

=====

===

Total 44 434.3111

=====

----Created with ProStat

----Fri Sep 26 14:45:52 2014

=====

Fuente: Autoras

ANEXO I

REGISTRO DE DATOS CONCENTRACIÓN LETAL (CL₅₀) INSECTICIDA 1

=====
Drug and Response Analysis: LD50/LC50

Data File Name: Untitled1
=====

Fitting Model -> Probit Model
Model Equation: Probit_Mortality=A+B*Log10_Concentración (ml/kg)

Input Data ...

Dose/Concentration ->	Concentración (ml/kg)
Dead Number ->	#Mortalidad
Total Number ->	# Total
Control Group ->	Control

Results ...

Parameter A:	-0.80214679
Parameter B(slope):	1.07702355
Deviance:	29.46205356
AIC:	59.29640189
LD50/LC50 Value:	5.55624141
LOG10(LD50/LC50) Value:	0.74478111

95% Confidence Interval for LD50/LC50...

Lower Limit:	1.36964191
Upper Limit:	22.54006574

Fuente: Autoras

ANEXO J

REGISTRO DE DATOS CONCENTRACIÓN LETAL (CL₅₀) INSECTICIDA 2

Drug and Response Analysis: LD50/LC50

Data File Name: Untitled4

Fitting Model -> Probit Model
Model Equation: Probit_Mortality=A+B*Log10_Concentración (r

Input Data ...

Dose/Concentration ->	Concentración (ml/kg)
Dead Number ->	#Mortalidad
Total Number ->	# Total
Control Group ->	Control

Results ...

Parameter A:	-0.58875738
Parameter B(slope):	1.61264491
Deviance:	56.78308621
AIC:	82.57687692
LD50/LC50 Value:	2.3178645
LOG10(LD50/LC50) Value:	0.36508804

95% Confidence Interval for LD50/LC50...

Lower Limit:	1.34162596
Upper Limit:	4.00446622

Fuente: Autoras

ANEXO K

REGISTRO DE DATOS CONCENTRACIÓN LETAL (CL₅₀) INSECTICIDA 3

Data File Name: Untitled3

=====
Fitting Model -> Probit Model
Model Equation: Probit_Mortality=A+B*Log10_Concentración

Input Data ...

Dose/Concentration ->	Concentración (ml/kg)
Dead Number ->	#Mortalidad
Total Number ->	# Total
Control Group ->	Control

Results ...

Parameter A:	0.305318649
Parameter B(slope):	1.24538772

Deviance:	51.36935717
AIC:	85.58184235

LD50/LC50 Value:	0.56864403
LOG10(LD50/LC50) Value:	-0.245159513

95% Confidence Interval for LD50/LC50...

Lower Limit:	0.37659366
Upper Limit:	0.85863378

=====
Fuente: Autoras