

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN EFECTIVA CE₅₀ DE DOS
PLAGUICIDAS COMERCIALES CON DIMETOATO COMO INGREDIENTE
ACTIVO SOBRE PLANTULAS DE LECHUGA (*Lactuca Sativa*, *fam asteraceae*)
VARIEDAD 'BATAVIA'**

DUNIA ALEJANDRA RAMIREZ GARIBELLO

**UNIVERSIDAD SANTO TOMAS
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD AMBIENTAL
BOGOTA D.C., COLOMBIA
2017**

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN EFECTIVA CE₅₀ DE DOS
PLAGUICIDAS COMERCIALES CON DIMETOATO COMO INGREDIENTE
ACTIVO SOBRE PLANTULAS DE LECHUGA (*Lactuca Sativa*, fam asteraceae)
VARIEDAD 'BATAVIA'**

DUNIA ALEJANDRA RAMIREZ GARIBELLO

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

FRANCOIS HERRERA JACQUELIN

MSc ECOLOGIA AGRICOLA

(Director)

JOHAN ALEXANDER ALVAREZ BERRIO

MSc TOXICOLOGIA

(Codirector)

UNIVERSIDAD SANTO TOMAS

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD AMBIENTAL

BOGOTA D.C., COLOMBIA

2017

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	9
1. OBJETIVOS	14
2. MARCO TEORICO	15
2.1. CONCENTRACIÓN EFECTIVA 50 (CE ₅₀)	15
2.2. CONCENTRACIÓN LETAL 50 (CL ₅₀)	15
2.5. LECHUGA	17
2.6. LA LECHUGA COMO INDICADOR DE TOXICIDAD	21
2.7. TOXICOCINÉTICA	22
2.8. PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS	24
2.9. EFECTOS DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN EL AMBIENTE	25
2.10. DIMETOATO	26
2.11. COMPOSICIÓN DE LOS PLAGUICIDAS	28
3. METODOLOGÍA	29
3.1. OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO	29
3.2. ENSAYO PRELIMINAR PARA ESTABLECER LAS CONCENTRACIONES	32
3.3. ENSAYO FINAL	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1. FASE I: ENSAYO PRELIMINAR, CÁLCULOS PARA LAS CONCENTRACIONES Y CONCENTRACIÓN LETAL 50	44
4.2. FASE II: BIOENSAYOS FINALES, OBTENCIÓN Y DESARROLLO DE LAS CONCENTRACIONES ADMINISTRADAS	46
4.2.1. Bioensayo Plaguicida A	46
4.2.2. Bioensayo Plaguicida B	48
4.3. ANÁLISIS DESCRIPTIVO Y ESTADÍSTICO POR BIOENSAYO	49
4.3.1. Plaguicida A	52
4.3.2. Plaguicida B	63
4.4. CURVA DOSIS RESPUESTA: BIOENSAYO FINAL	71
4.4.1. Plaguicida A	71
4.4.2. Plaguicida B	75
5. IMPACTO SOCIAL	80
6. CONCLUSIONES	81
7. BIBLIOGRAFIA	85
8. ANEXOS	89

LISTA DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1. PROCESO DE CUARTEO DE LA TIERRA	29
ILUSTRACIÓN 2. TAMIZACIÓN.....	30
ILUSTRACIÓN 3. INVERNADERO CASERO	31
ILUSTRACIÓN 4. MATERIALES DEL SISTEMA DE RIEGO	32
ILUSTRACIÓN 5. MODELO EXPERIMENTAL, PRE-ENSAYO.	33
ILUSTRACIÓN 6. FASE 1 DE LA GERMINACIÓN, PRE-ENSAYO.....	34
ILUSTRACIÓN 7. FASE 2 DE LA GERMINACIÓN, PRE-ENSAYO.....	34
ILUSTRACIÓN 8. DÍA 1: APLICACIÓN DE PLAGUICIDA, 7 DE DICIEMBRE.....	37
ILUSTRACIÓN 9. MODELO EXPERIMENTAL, ENSAYO FINAL.	39
ILUSTRACIÓN 10. SOBRES CON LAS PLANTAS POR TRATAMIENTO	40
ILUSTRACIÓN 11. PLANTAS SECAS A 50°C DESPUÉS DE UN DÍA.....	41
ILUSTRACIÓN 12. PLANTAS DE LECHUGA POR TRATAMIENTO, PLAGUICIDA A.....	50
ILUSTRACIÓN 13. PLANTAS DE LECHUGA POR TRATAMIENTO, PLAGUICIDA B.....	51
ILUSTRACIÓN 14. PLÁNTULAS DESPUÉS DEL PROCESO DE SECADO, PLAGUICIDA A.	61

LISTA DE GRAFICOS

GRAFICO 1. NÚMERO DE MUERTES DE PLÁNTULAS POR PLAGUICIDA.	45
GRAFICO 2. RESULTADOS BASADOS EN LA OBSERVACIÓN DE LAS PLÁNTULAS, PLAGUICIDA A.	53
GRAFICO 3. PROMEDIO DE LA DIFERENCIA DE ALTURA, PLAGUICIDA A.	56
GRAFICO 4. PROMEDIO DE LONGITUD DE LA RAÍZ, PLAGUICIDA A.	58
GRAFICO 5. PROMEDIO DEL PESO FRESCO, PLAGUICIDA A.	59
GRAFICO 6. PROMEDIO DEL PESO SECO, PLAGUICIDA A.	60
GRAFICO 7. RESULTADOS BASADOS EN LA OBSERVACIÓN DE LAS PLÁNTULAS, PLAGUICIDA B.	63
GRAFICO 8. PROMEDIO DE LA DIFERENCIA DE ALTURA, PLAGUICIDA B.	66
GRAFICO 9. PROMEDIO DE LONGITUD DE LA RAÍZ, PLAGUICIDA B.	67
GRAFICO 10. PROMEDIO DEL PESO FRESCO, PLAGUICIDA B.	68
GRAFICO 11. PROMEDIO DEL PESO SECO, PLAGUICIDA B.	69
GRAFICO 12. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE DIFERENCIA DE ALTURA. PLAGUICIDA A.	72
GRAFICO 13. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE LONGITUD DE RAÍZ. PLAGUICIDA A.	73
GRAFICO 14. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE PESO FRESCO. PLAGUICIDA A.	74
GRAFICO 15. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE PESO SECO. PLAGUICIDA A.	75
GRAFICO 16. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE DIFERENCIA DE ALTURA. PLAGUICIDA B.	76
GRAFICO 17. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE LONGITUD DE RAÍZ. PLAGUICIDA B.	77
GRAFICO 18. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE PESO FRESCO. PLAGUICIDA B.	78
GRAFICO 19. DOSIS-RESPUESTA, VARIABLE PESO SECO. PLAGUICIDA B.	79

LISTA DE TABLAS

TABLA 1. MORFOLOGÍA DE LA LECHUGA.....	17
TABLA 3. CONCENTRACIÓN POR TRATAMIENTO.....	36
TABLA 2. CONDICIONES AMBIENTALES DE CRECIMIENTO.....	39
TABLA 4. INDIVIDUOS AFECTADOS POR PLAGUICIDA, PRE- ENSAYO.....	44
TABLA 5. CONCENTRACIÓN DE PLAGUICIDA A POR LITRO DE SOLUCIÓN	47
TABLA 6. CONCENTRACIÓN DE PLAGUICIDA B POR LITRO DE SOLUCIÓN	48
TABLA 7. CANTIDAD DE PLAGUICIDA A POR LITRO DE SOLUCIÓN, ENSAYO FINAL.	50
TABLA 8. CANTIDAD DE PLAGUICIDA B POR LITRO DE SOLUCIÓN, ENSAYO FINAL.	51
TABLA 9. INDIVIDUOS AFECTADOS POR PLAGUICIDA, ENSAYO	52
TABLA 10. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS PLAGUICIDA A	55
TABLA 11. ANÁLISIS ANOVA, PLAGUICIDA A	55
TABLA 12. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS PLAGUICIDA B.	64
TABLA 13. ANÁLISIS ANOVA, PLAGUICIDA B	65
TABLA 14. CONCENTRACIÓN EFECTIVA 50 PLAGUICIDA A.	71
TABLA 15. CONCENTRACIÓN EFECTIVA 50 PLAGUICIDA B.	75

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. ANÁLISIS DEL SUELO	89
ANEXO 2. SEGUIMIENTO FOTOGRÁFICO, PRE-ENSAYO	90
ANEXO 3. SEGUIMIENTO FOTOGRÁFICO, ENSAYO.....	91
ANEXO 4. CONCENTRACIÓN LETAL 50, PLAGUICIDA A.	92
ANEXO 5. CONCENTRACIÓN LETAL 50, PLAGUICIDA B.	93
ANEXO 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DMS, PLAGUICIDA A.....	94
ANEXO 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DMS, PLAGUICIDA B	96

RESUMEN

El presente trabajo consistió en encontrar la concentración efectiva 50 (CE₅₀) de dos plaguicidas de diferente casa comercial con el mismo ingrediente activo, Dimetoato perteneciente a la familia de los plaguicidas organofosforados, sobre la lechuga (*Lactuca Sativa* variedad Batavia). El diseño experimental fue basado en el método 227 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) sobre ensayos en plantas terrestres "Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test; el cual está diseñado para evaluar los efectos sobre el vigor vegetativo de las plantas después de la exposición de la sustancia problema. Se realizaron dos bioensayos bifactoriales (2x5) usando un diseño completo al azar, en donde el primer factor es la marca del insecticida (insecticida A e insecticida B, ambos emulsión concentrada al 40%) y el segundo factor es la concentración del insecticida. El primer bioensayo consistió en someter plántulas de lechuga a diferentes concentraciones del insecticida como producto comercial (308,64 ml/L, 154,32 ml/L, 77,16 ml/L, 38,58 ml/L, 19,29 ml/L) y comprobar a partir de que concentración hay una respuesta letal o una respuesta sub letal. A partir de los resultados del primer bioensayo se establecieron las concentraciones del ensayo final. En el ensayo final las plántulas de lechuga se sometieron a concentraciones 0,04 ml/L, 0,34 ml/L, 0,64 ml/L, 0,94 ml/L, 1,24 ml/L de insecticida A y a concentraciones de 0,08 ml/L, 0,91 ml/L, 1,74 ml/L, 2,57 ml/L, 3,4 ml/L de insecticida B. Las variables de respuesta evaluadas fueron la diferencia en longitud de la parte aérea de la plántula, la longitud de la raíz, el peso fresco de la plántula al final del periodo de observación y el peso seco de la plántula al final del periodo de observación. Se tomaron medidas durante 28 días. Para las variables longitud de hojas y longitud de raíz no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas entre los valores de la variable peso seco para ambos plaguicidas. Adicionalmente, se aprovechó los resultados obtenidos en el pre-ensayo para evaluar el porcentaje de individuos muertos por el plaguicida y se halló la concentración letal de ambos plaguicidas con el software ProStat dando como resultado valores de 23,15 ml/L de Plaguicida A y 46,66 ml/L de Plaguicida B, para el bioensayo principal, se halló la concentración efectiva por cada variable respuesta analizada mediante el mismo software. Este proceso se hizo para cada plaguicida por separado.

Palabras claves: Bioindicador, Lechuga, Toxicidad, Plaguicida, Dimetoato, Concentración Efectiva, Curva dosis-respuestas.

ABSTRACT

The present work consisted in finding the effective concentration 50 (EC_{50}) of two pesticides of different commercial house with the same active ingredient, Dimethoate belonging to the family of organophosphorus pesticides, on lettuce (*Lactuca Sativa* variety Batavia). The experimental design was based on Method 227 of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) on Terrestrial Plant Testing: Vegetative Vigor Test; Which is designed to evaluate the effects on vegetative vigor of plants after exposure of the test substance. Two bifactorial (2x5) bioassays were performed using a randomized complete design, where the first factor is the insecticide brand (both insecticide A and insecticide B with 40% concentrated emulsion) and the second factor is the insecticide concentration. The first bioassay consisted in subjecting lettuce seedlings to different concentrations of the two insecticides (308,64 ml/L, 154,32 ml/L, 77,16 ml/L, 38,58 ml/L, 19,29 ml/L) and checking from which concentration there is a lethal response or a sub lethal response. From the results of the first bioassay the final assay concentrations were established. In the final bioassay lettuce seedlings were subjected to concentrations of 0.04 ml / L, 0.34 ml / L, 0.64 ml / L, 0.94 ml / L, 1.24 ml / L of insecticide A and concentrations of 0.08 ml / L, 0.91 ml / L, 1.74 ml / L, 2.57 ml / L, 3.4 ml / L of insecticide B. The response variables evaluated were the difference in length, root length, fresh weight and dry weight of the seedling at the end of the observation period. Measurements were taken for 28 days. For the leaf length and root length variables, no statistically significant differences were found, however, there were significant differences between the values of the dry weight variable for both pesticides. In addition, the results obtained in the preliminary bioassay were used to evaluate the percentage of individuals killed by the pesticide and the lethal concentration of both pesticides was found with ProStat software, resulting in values of 23,15 ml / L of Pesticide A and 46.66 ml / L of Pesticide B, for the main bioassay, the effective concentration for each variable was found by the same software. This process was made with both insecticides, A and B.

Key words: Bioindicator, Lettuce, Toxicity, Pesticide, Dimethoate, Effective Concentration, Dose Response Curve.

INTRODUCCIÓN

Esta investigación toxicológica tiene, además de un proceso complementario en la enseñanza y formación tanto del estudiante como de la persona interesada en el campo a tratar, el propósito de conocer la toxicidad concerniente a los productos fitosanitarios a trabajar en el presente bioensayo, y sus efectos sobre una especie u organismo vivo basados en antecedentes de acumulación del xenobiótico en alimentos de la canasta familiar y riesgos de alteración de los recursos no renovables como el suelo y agua por filtración del producto o por efecto de escorrentía desde el terreno de cultivo hasta las fuentes hídricas. Circunstancias que incumplen con la protección a los recursos ecosistémicos y la salud pública debido a la exposición directa (al ser quien maneja el producto) o indirecta (consumidor). Llevando así a reevaluar las concentraciones de producto fitosanitarios a las que son expuestos los cultivos con el fin de evitar plagas en los mismos.

Se ha estimado que al sector agropecuario corresponde cerca de 85% del consumo de plaguicidas en el mundo y, según publicaciones de la Organización Internacional del Trabajo (OIT), el envenenamiento por plaguicidas estaría ocasionando 14% de las lesiones ocupacionales del sector agrícola [1]. Para el sector agropecuario de Colombia, la parte de agroquímicos para la protección y mejora de los cultivos y sección ganadera forma parte vital de la economía del país debido a sus altos niveles de importación y exportación. En el 2010, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), realizó unas estadísticas de comercialización de plaguicidas químicos de uso agrícola por empresas, tipo de control e ingrediente activo para el año mencionado. Se evidencia que la producción y venta de plaguicidas de tipo insecticida fue de 3'325.20 Kg (5'392.4 Lt) y 2'835.54 Kg (6'497.69 Lt) respectivamente. Y para el caso del ingrediente activo Dimetoato, tuvo una producción de 117.3 Lt y una venta de 153.4 Lt [2].

El Dimetoato hace parte de la familia de los organofosforados, su nomenclatura química corresponde al nombre de 0,0-Dimetil-S-(N-metilcarbamoilometilo)-fosforoditioato. La familia de los organofosforados fue de preferencia sobre los organoclorados en prácticas agrícolas debido a su poca persistencia en el ambiente y buena efectividad contra plagas en cultivos, sin embargo, varios estudios han demostrado que en los productos de consumo diario, como vegetales o frutas, debido a su acción sistémica se ha encontrado rastros de pesticidas organofosforados, en los cuales se encuentran plaguicidas con Dimetoato como ingrediente activo. Este ingrediente activo está clasificado como moderadamente tóxico, y ha sido reevaluado en diferentes países debido a sus antecedentes toxicológicos al ser causante de varias muertes e intoxicaciones. A pesar de que el Dimetoato es poco persistente en el suelo y en la planta debido a que se degrada

en cuestión de días, se han encontrado investigaciones que revelan la existencia de residuos de plaguicidas en los productos provenientes de zonas de cultivos.

Ejemplo de lo anterior es un estudio realizado en el año 2015 por Jitendra Kumar, Gunjan Dubey y R. Gopal, acerca del efecto del Dimetoato sobre el crecimiento y la actividad fotosintética de las plantas de garbanzo (*Cajanus cajan* L.), tratadas con diversas concentraciones del insecticida durante 30 días a intervalos regulares de 10 días cada uno; donde demostraron que después de 10 días de tratamiento, 10 ppm de Dimetoato mostró respuesta estimulante, mientras que 20, 40 y 80 ppm de Dimetoato mostraron respuesta inhibitoria para el crecimiento y la actividad fotosintética de las plantas de garbanzo, pero después de 20 y 30 días de tratamiento, las diferentes concentraciones de Dimetoato se volvieron inhibitoras [3]. Demostrando así que el Dimetoato es muy tóxico para la planta, incluso a una concentración muy baja si se utiliza durante un periodo prolongado.

En Argentina, Bios una Asociación Civil para la defensa del ambiente, radica en el 2010 la denuncia en la Fiscalía General habiendo comprobado que hay riesgo para la salud humana por contaminación con plaguicidas en las verduras de consumo masivo, experto en análisis de residuos de plaguicidas hallaron 3 muestras con químicos organofosforados de 5 ensayadas, en las cuales se encontraron Dimetoato y Clorpirifos [4].

La capital de Colombia no se queda atrás, en el año 2004 en Bogotá se encontró residuos de organofosforados en tomates, entre los plaguicidas que analizaron se encontraba el ingrediente activo Dimetoato. Se analizaron diez muestras obtenidas en la central mayoritaria de abastos y ocho muestras de una cadena de supermercados de las cuales el 55% presentó contaminación con Dimetoato, aunque ninguna sobrepasó el límite máximo de residuos de 1 mg/kg establecido por el Codex alimentario [5].

Por otra parte, su absorción por la piel de aquellos trabajadores que tienen contacto directo con el plaguicida, causando enfermedades en la persona o incluso la muerte si se llega a ingerir. Así como lo asegura la Organización Mundial de la Salud (OMS) en un informe del 2011 en el cual menciona que “cada año se producen 3 millones de envenenamientos por estos compuestos, y de ellos resultan 250.000 muertes” [6]. La exposición ocupacional con mayor riesgo de intoxicación aguda ocurre en agricultores y exterminadores de plagas [7]. Adicionalmente, se evidencia cómo el prolongado y mal uso de plaguicidas para la protección de los cultivos, trae consecuencias en los recursos no renovables como las fuentes hídricas y el suelo.

En relación con las consecuencias de los plaguicidas en el ambiente se evidencian cuando los suelos pierden compuestos que hacen de este un suelo apto para la siembra, es decir, se convierte en un suelo no fértil. Con respecto al recurso hídrico, sirve como medio de transporte para los residuos del plaguicida ocasionando que seres vivos, animales y plantas que se provean de dicha fuente hídrica, consuman en pequeñas cantidades este xenobiótico o sus derivados, incluyendo peces, algas, animales para consumo humano como vacas, e incluso el mismo ser humano al beber directamente de la fuente hídrica contaminada [8].

Así como lo evidencian en estudios recientes donde los plaguicidas organofosforados, son capaces de contaminar los recursos hídricos a pesar de que se catalogan como plaguicidas poco persistentes. Tal como es el caso de cuatro plaguicidas analizados, entre los cuales se encontraba el ingrediente activo Dimetoato, en suelos de Yucatán México donde la capa del suelo (Horizonte A) no es lo suficientemente gruesa como para evitar el paso de dichos plaguicidas [9]. Otro caso de estudio, realizado en el 2016 se encontró que los plaguicidas organofosforados: Sulfotep, Dimetoato, Metilparatión y Diazinon han sido detectados en muestras de aguas subterráneas a concentraciones superiores a 5 mg / L, lo que representa un riesgo de ser sustancias altamente tóxicas. La baja adsorción y, por tanto, la alta movilidad de los plaguicidas representa un riesgo para la calidad del agua subterránea. Por lo tanto, se requieren medidas de control para limitar el uso de pesticidas organofosforados tanto en las áreas urbanas como agrícolas [10].

Con el fin de comprobar cómo el uso de plaguicidas afecta el crecimiento de las plantas en los diversos cultivos, y como el uso excesivo del mismo provoca que en los alimentos y recursos no renovables queden residuos peligrosos de los productos químicos utilizados para la protección de plantaciones, se realizó el siguiente experimento utilizando el Plaguicida A y Plaguicida B, por su uso regular como insecticida y/o nematicida en las actividades agrícolas de Colombia, y la lechuga debido a sus antecedentes como un bioindicador para evaluar el efecto fitotóxico de plaguicidas en especies no blanco mediante la inhibición en la elongación, estudiando sus principales cambios físicos tales como color, tamaño, peso, etc.

Los bioensayos se basaron en investigaciones nacionales e internacionales sobre ensayos toxicológicos con la lechuga e insecticidas, además de métodos ya establecidos como lo es el de la OCDE 227 sobre ensayos en plantas terrestres "Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test", fueron el cimiento para identificar de forma experimental la concentración efectiva 50 (CE₅₀) de dos plaguicidas que poseen Dimetoato como ingrediente activo, pero provenientes de diferente casa comercial. Dicho ingrediente activo es de uso común en varias prácticas agrícolas

para el control de ácaros e insectos en una gran variedad de cultivos, como cebolla, maracuyá, frijol, maíz, papa, piña, tomate, entre muchos otros [11], además de tener uso en forestales, frutales, ornamentales y hortalizas.

Se realizaron dos bioensayos, uno para identificar las dosis adecuadas a las cuales someter las plántulas de lechuga, teniendo el porcentaje de muertes como variable respuesta, y otro en el cual se halló la concentración efectiva 50 de los plaguicidas con ingrediente activo Dimetoato seleccionados con anterioridad. Las semillas seleccionadas para el proceso fueron semillas sin curar y se germinaron en bandejas con papel de cocina humedecido con agua por un periodo de una semana, después se trasplantaron a unas bolsas de siembra y se dispusieron de forma aleatoria en un invernadero casero. Cada bolsa tenía una plántula de lechuga y cada tratamiento 12 plántulas. En total son 10 tratamientos más el grupo control o testigo que no se sometió a ninguna exposición del agente xenobiótico químico.

Se decidió aplicar el xenobiótico en las plántulas de lechuga una vez estas presentaran entre tres y cuatro hojas verdaderas, debido a que durante la germinación y los primeros días de crecimiento de la plántula, ocurren numerosos procesos fisiológicos, en los que la presencia de una sustancia tóxica o la concentración elevada de nutrientes puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal del vegetal [12], después se analizaron los cambios de los individuos con respecto al color, supervivencia, crecimiento durante los 28 días de observación, longitud de la raíz y el peso fresco y seco de cada plántula.

Mediante el análisis ANOVA, se establece si es prudente realizar análisis paramétricos o no paramétricos a cada una de las variables respuesta del bioensayo final, esto dependerá de si su varianza es igual o no, los primeros métodos de análisis deben cumplir algunas condiciones de validez, de modo que el resultado de la prueba paramétrica sea fiable. por ejemplo, la prueba t de student para dos muestras independientes será fiable solo si cada muestra se ajusta a una distribución normal y si la varianza es homogénea, mientras que los análisis no paramétricos no deben ajustarse a ninguna distribución, pueden por tanto aplicarse aunque no se cumplan las condiciones de validez paramétricas [13].

El análisis post-hoc seleccionado fue la Diferencia Mínima Significativa (DMS), el cual crea intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores, mientras se controla la tasa de error individual en función de un nivel de significancia que especifique [14], en este caso, fue un modelo bifactorial, ya que se tenía la dosis implementada por tratamiento (5

tratamientos por plaguicida) y el plaguicida utilizado como factores principales. Las variables de respuesta fueron la elongación de la plántula durante los 28 días de observación, la longitud de la raíz, el peso fresco y el peso seco de cada plántula únicamente al día 28.

1. OBJETIVOS

- **Objetivo General**

Determinar la concentración efectiva CE_{50} de dos plaguicidas comerciales cuyo ingrediente activo es el Dimetoato en el desarrollo de plántulas de lechuga.

- **Objetivos Específicos**

- Verificar que la composición del suelo a utilizar es adecuada para la siembra de lechuga.
- Establecer las concentraciones de las dos marcas comerciales con ingrediente activo Dimetoato a las cuales estarán expuestas las semillas de lechuga 'Batavia' a través de un pre-ensayo por cada formulación de insecticida.
- Realizar dos ensayos simultáneos donde las plántulas de lechuga serán expuestas a dos formulaciones diferentes de Dimetoato.
- Describir las alteraciones de la fisonomía en la lechuga, como el color, el tamaño y longitud de la raíz, durante su crecimiento a causa del uso de los insecticidas.

2. MARCO TEORICO

2.1. Concentración efectiva 50 (CE₅₀)

Concentración efectiva es la proporción de una sustancia en un medio que causa un determinado efecto en un sistema dado; la CE-50 es la concentración que causa el 50% del efecto máximo. La concentración efectiva media (CE₅₀) es la concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que produzca un determinado efecto en el 50% de los organismos de experimentación de una población dada, bajo un conjunto de condiciones definidas [15].

2.2. Concentración letal 50 (CL₅₀)

La concentración letal es la proporción de una sustancia tóxica en un medio, que causa la muerte después de un cierto período de exposición. Por consiguiente, la concentración letal 50 corresponde a la concentración, calculada estadísticamente, de una sustancia en el medio, que se espera que mate al 50% de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas [15].

2.3. Curva dosis-respuesta

El principal propósito de realizar estudios de toxicidad aguda y crónica es establecer una relación causa-efecto entre la exposición a una sustancia tóxica y un efecto observado para determinar un nivel de exposición seguro. Uno de los aspectos importantes en toxicología y ecotoxicología es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo y el consecuente efecto nocivo que le produce. Esta relación, conocida como la relación dosis-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente [16].

Hay dos tipos de curvas dosis-respuesta: una que describe las respuestas graduadas de un individuo a dosis variables del producto químico y una que describe la distribución de respuestas a diferentes dosis en una población de individuos [17]. La relación dosis-respuesta es la relación entre la dosis y el porcentaje de individuos que presentan un determinado efecto. Al incrementarse la dosis lo normal es que aumente el número de individuos afectados en la población expuesta [18].

Pueden establecerse varias curvas de dosis-respuesta respecto de una misma sustancia química —una curva para cada tipo de efecto. En la mayoría de los efectos tóxicos (cuando se estudian en poblaciones grandes), la curva de dosis-respuesta tiene una forma sigmoidea. Hay por lo general un intervalo de dosis bajas en el que no se detecta respuesta alguna; al aumentar la dosis, la respuesta sigue una curva ascendente que normalmente llega a una meseta cuando la respuesta es del 100 %. La curva de dosis-respuesta refleja las variaciones entre individuos de una misma población [18].

Un aspecto importante de las relaciones dosis-respuesta es el concepto de umbral. El cuerpo humano tiene defensas contra muchos agentes tóxicos. Las células de los órganos humanos, especialmente en el hígado y los riñones, descomponen los productos químicos en sustancias no tóxicas que pueden eliminarse del cuerpo en la orina y las heces. De esta manera, el cuerpo humano puede tomar algún tóxico (a una dosis que está por debajo del umbral) y seguir siendo saludable [17].

2.4. Concentración donde no se observa efecto (Por sus siglas en inglés, NOEC) y concentración más baja donde se observa efecto (Por sus siglas en inglés, LOEC)

La NOEC (a veces denominada NOAEL: nivel de efectos adversos no observables) es la concentración más alta de tóxico de las empleadas en un bioensayo que no causa un efecto estadísticamente significativo (mortalidad, alteraciones de la reproducción, cambios comportamentales, etc.) en la población estudiada para una exposición determinada (=tiempo) al ser comparado con el control. Mientras que la LOEC es la concentración más baja de tóxico de las empleadas en un bioensayo que causa un efecto estadísticamente significativo (mortalidad, alteraciones de la reproducción, cambios comportamentales, etc.) en la población estudiada para una exposición determinada (=tiempo) al ser comparado su efecto con el control [19].

La NOEC y LOEC proporcionan conceptos complementarios útiles, informando los límites de detección del método aplicado. Estos límites se calculan rutinariamente mediante ANOVA, comparando las respuestas de un control con las obtenidas para concentraciones crecientes de un agente en la región umbral, y el resultado se añade normalmente como información clave al valor de CE_{50} derivado de algún tipo formal de modelo dosis- respuesta [20].

2.5. Lechuga

Las lechugas forman el género *Lactuca* y pertenecen a la familia de las Asteráceas (Compuestas), que abarca más de 1000 géneros y 20.000 especies, de las que muy pocas se cultivan. Esta familia, cuyo nombre actual deriva del griego Aster (estrella), se caracteriza porque sus flores están compuestas por la fusión de cientos e incluso miles de flores diminutas. Dentro de las Asteráceas se encuentran muchos tipos de hortalizas de diversas especies: de hoja (achicoria, lechuga, endibia, escarola), de flor (alcachofa) o de tallo (cardo). El término científico *Lactuca Sativa* también incluye a los cogollos y lechugas de tallo pequeño que forman una cabeza parecida a la de la col [21].

Es originaria de la cuenca del Mediterráneo en la costa meridional, aunque hay quienes afirman que es originaria de la India o de Asia Central. Fue introducida en América por los primeros exploradores, y cultivada inicialmente en el área del Caribe [22]. El cultivo de la lechuga comenzó hace 2.500 años. Era una verdura ya conocida por persas, griegos y romanos. Estos últimos tenían la costumbre de consumirla antes de acostarse después de una cena abundante para así poder conciliar mejor el sueño. Además, en esta época ya se conocían distintas variedades de lechuga [21].

A continuación, se describe de forma breve las partes que conforman la lechuga:

Tabla 1. Morfología de la lechuga

Partes de la lechuga	Descripción
Semillas	Están provistas de un vilano plumoso
Raíz	La raíz, que no llega nunca a sobrepasar los 25 cm. de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones
Tallo	Es cilíndrico y ramificado
Hojas	Las hojas están colocadas en roseta, desplegadas al principio; en unos casos siguen así durante todo su desarrollo., y en otros se acogollan más tarde. Los bordes de los limbos pueden ser liso, ondulado o aserrado
Inflorescencia	Capítulos florales amarillos dispuestos en racimos o corimbos

Fuente: El cultivo de la lechuga, [23].

La lechuga es la hortaliza más cultivada en Cundinamarca con un área aproximada de 636 ha con una producción anual de 9.276 ton. Contiene alto porcentaje de agua (90-95%), como también folatos, provitamina A o betacaroteno y cantidades apreciables de vitamina C, estas dos últimas con acción antioxidante, relacionadas con la prevención de enfermedades cardiovasculares e incluso de cáncer [24].

Las características generales de la lechuga son:

- ✓ Forma: más o menos redondeada según la variedad [21].
- ✓ Tamaño: 20 a 30 centímetros de diámetro, según la variedad a la que pertenezcan. Los cogollos tienen un diámetro de cerca de 10 centímetros. El peso medio de una lechuga es de unos 300 gramos [21].
- ✓ Color: en general son de color verde, aunque algunas variedades presentan hojas blanquecinas o incluso rojizas o marrones. Las hojas interiores de los cogollos son amarillentas [21].
- ✓ Sabor: suave, agradable y fresco. El sabor de los cogollos es algo más intenso y amargo que el de la lechuga [21].

El ciclo productivo de la lechuga puede variar entre los 40 días y los 3 meses, por lo que puede ser cultivada durante todo el año. Se estima que la lechuga tiene una etapa de plantulación, de entre 4 y 5 semanas, previo al trasplante; y un período en campo que oscila entre 6 a 12 semanas dependiendo de la variedad, algunos ejemplos son:

- ✓ Lechuga de cabeza: también conocida como 'Batavia' o Iceberg, presenta cabeza cerrada y mayor resistencia al daño mecánico. En el interior se forma un cogollo apretado y firme, mientras que, en el exterior de la planta, las hojas presentan bordes rizados; las hojas son abiertas, gruesas, crujientes y tienen como función proteger el cogollo [22].
- ✓ Lechuga Romana: sus hojas son alargadas, con un nervio central ancho y bordes enteros; forman un cogollo ligeramente apretado. Su color característico es verde oscuro, sin embargo, se presentan también variedades de color rojo oscuro [22].
- ✓ Lechuga Crespa: conocida como lechuga gourmet. Sus hojas son sueltas por lo que no forma cabeza, de textura suave, pueden ser crespas o lisas; su

color varia de verde claro a verde oscuro y de rojo a morado en diferentes tonalidades. [22].

- ✓ Lechuga Lisa: se caracteriza por su cabeza cerrada o semiabierta; y a diferencia de la 'Batavia', ésta no es apretada. Las hojas de la superficie son verdes-amarillas, muy lisas, con textura suave y un poco aceitosa. Tiene alta susceptibilidad al daño mecánico [22].

El número de hojas puede ser utilizado como indicador de desarrollo, separando el crecimiento vegetativo de las variedades de lechuga que forman cabeza, en tres etapas:

- ✓ Etapa de plántula: comprende desde la emergencia a la aparición de la tercer o cuarta hoja verdadera. Esta etapa dura de 3 a 6 semanas en función de las condiciones ambientales (especialmente temperatura) [25].
- ✓ Fase de roseta: en esta etapa empieza a disminuir la relación largo/ancho de las láminas foliares. Los pecíolos se hacen sumamente cortos o desaparecen, por lo que la planta adquiere aspecto de roseta. En esta etapa la planta llega a 12 – 14 hojas verdaderas [25].
- ✓ Formación de la cabeza: la cabeza constituye un órgano de reserva, con hojas preformadas o no completamente desarrolladas, en un arreglo compacto. Para la formación de la cabeza continúa el descenso de la relación largo/ancho en las nuevas hojas, acompañado por un curvamiento de la nervadura central sobre el punto de crecimiento de la planta (crecimiento erecto). Se restringe así el crecimiento de las nuevas hojas desarrolladas en el ápice, que quedan rodeadas por las externas, formándose la cabeza [25].
- ✓ Madurez: en esta etapa se ha formado un gran número de hojas en el interior, generando un cogollo firme. Tiene una duración de 60 a 120 días. Cuando las hojas continúan expandiéndose hasta que se forman grietas por la presión se le conoce como sobre madurez [22].
- ✓ Floración: el tallo floral emerge a través de la parte superior del cogollo. Las flores se forman a los 50 a 70 días, después de 12 a 14 días del desarrollo de la flor, el involucre se seca y se abre generando semillas [22].

Los suelos preferidos por la lechuga son los ligeros, arenoso-limosos, con buen drenaje, situando el pH óptimo entre 6,7 y 7,4. En los suelos húmidos, la lechuga vegeta bien, pero si son excesivamente ácidos será necesario encalar. Este cultivo, en ningún caso admite la sequía, aunque la superficie del suelo es conveniente que esté seca para evitar en todo lo posible la aparición de podredumbres de cuello [23].

Según la estación del año en la que se siembra la lechuga se debe tener en cuenta:

- ✓ En cultivos de primavera, se recomiendan los suelos arenosos, pues se calientan más rápidamente y permiten cosechas más tempranas [26].
- ✓ En cultivos de otoño, se recomiendan los suelos francos, ya que se enfrían más despacio que los suelos arenosos [26].
- ✓ En cultivos de verano, es preferible los suelos ricos en materia orgánica, pues hay un mejor aprovechamiento de los recursos hídricos y el crecimiento de las plantas es más rápido [26].

La temperatura óptima de germinación oscila entre 18-20°C. Durante la fase de crecimiento del cultivo se requieren temperaturas entre 14-18°C por el día y 5-8°C por la noche, pues la lechuga exige que haya diferencia de temperaturas entre el día y la noche. Durante el acogollado se requieren temperaturas en torno a los 12°C por el día y 3-5°C por la noche [23].

Este cultivo soporta peor las temperaturas elevadas que las bajas, ya que como temperatura máxima puede soportar hasta los 30 °C y como mínima temperaturas de hasta -6 °C. Cuando la lechuga soporta temperaturas bajas durante algún tiempo, sus hojas toman una coloración rojiza, que se puede confundir con alguna carencia [23]. Las temperaturas elevadas generan plantas débiles, favorecen la aparición de quemaduras en los bordes de las hojas, induce floración prematura, generan sabores amargos por la acumulación de látex en su sistema vascular y, específicamente en las lechugas tipo cabeza, afecta la formación del repollado [22].

La lechuga es una planta muy sensible a los excesos de humedad. Su poco desarrollado sistema radicular hace que soporte mal la sequía, disminuyendo el tamaño de la lechuga [27]. El cultivo se desarrolla entre los 1.800 y 2.800 m.s.n.m, con humedades relativas entre 60 y 70%, y en zonas de baja ocurrencia de vientos. La productividad del cultivo de lechuga, así como sus características de color, sabor y textura, dependen en gran medida de la luminosidad solar, requiriendo aproximadamente 12 horas luz por día [22].

Los sistemas de riego más utilizados para la aplicación de agua en el cultivo de lechuga son: riego por goteo (mantiene los niveles de humedad en equilibrio), riego por surcos (el más utilizado sin embargo las pérdidas hídricas en este método son altas), riego por aspersión (el agua llega en forma de lluvia localizada) y de manera

manual (aplicando riego de manera puntual en extensiones pequeñas). La cantidad y frecuencia del riego dependen del tipo de suelo, del tamaño de la planta y del clima, teniendo en cuenta que la aplicación debe realizarse teniendo la precaución de no generar excesos [22].

2.6. La lechuga como indicador de toxicidad

Las especies vegetales presentan diferente sensibilidad frente a los distintos contaminantes debido a sus diferentes características biológicas, fisiología, morfología, estructura, hábitat y rol ecológico, además de la variación asociada a las diferentes vías de exposición a los tóxicos (contacto directo, a través del agua o suelo) y estado ontogenético durante la exposición (semilla, plántula, planta) [28].

Entre los ensayos con plantas vasculares recomendados para la evaluación de efectos fitotóxico, se encuentran aquellos que recurren al uso de semillas de plantas terrestres, evaluando principalmente el efecto de los contaminantes en el proceso de germinación y en el desarrollo y establecimiento de las plántulas en los primeros días de crecimiento. En los diferentes protocolos para evaluar la toxicidad con semillas, se recomienda la consideración de diferentes familias botánicas, siendo la especie *Lactuca Sativa* ampliamente difundida para su aplicación en este tipo de ensayos, tanto por su sensibilidad a diferentes tipos de contaminantes (metales, pesticidas y otros compuestos orgánicos), como por su simplicidad en la ejecución del bioensayo [28].

La evaluación del efecto en la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos que no son suficientes para inhibir la germinación, sin embargo, pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo. De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria al estudiar el efecto en la germinación [29].

El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca Sativa*) es una prueba estática de toxicidad aguda en la que se puede evaluar los efectos fitotóxico de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Este bioensayo de toxicidad ha sido recomendado y aplicado por diferentes organismos de protección ambiental para la evaluación ecotoxicológica de muestras

ambientales y compuestos puros, además de la evaluación del efecto fitotóxico de plaguicidas sobre especies no blanco, necesarios para el registro de estos compuestos [29].

Los ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre semillas de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de las semillas, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. Estos ensayos de toxicidad son de gran importancia ya que son relativamente simples, rápidos y económicos, también permiten establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y comparar la sensibilidad de una o más especies a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para el mismo tóxico [30].

Es útil para la investigación básica del fenómeno de toxicidad, establecer criterios o patrones de calidad de aguas superficiales o efluentes, la evaluación del impacto ambiental y del riesgo ecológico. Además, se necesitan implementar estos ensayos biológicos para obtener información adicional sobre riesgos potenciales, incluyendo efectos tóxicos como generación de cáncer, malformaciones, desórdenes de conducta, efectos acumulativos, antagonismos y sinergismos [30].

2.7. Toxicocinética

Proceso de captación de sustancias tóxicas por el cuerpo, biotransformaciones que sufre, distribución de la sustancia y de sus metabolitos en los tejidos, y eliminación de los mismos. Se estudian tanto las cantidades como las concentraciones de las sustancias y de sus metabolitos [31].

El tránsito por el organismo de un producto capaz de originar intoxicaciones sistemáticas incluye la concentración de una serie de procesos como lo son los siguientes: absorción, distribución, fijación y excreción, a lo largo de todos los cuales, la molécula tóxica experimenta numerosas transformaciones bioquímicas [32].

2.7.1. Absorción: paso de una sustancia o xenobiótico (tóxico) desde el lugar de administración hasta el plasma. Para que se produzca absorción, las sustancias tienen que atravesar membranas semipermeables [32]. Las sustancias pueden atravesar las membranas biológicas por cinco mecanismos:

- **Filtración:** La filtración se realiza a través de los poros de la membrana. La membrana biológica tiene "poros acuosos" o canales de 4-40 Angstrom de diámetro ($1 \text{ A} = 0.1 \text{ nm}$) que dejan pasar compuestos hidrófilos, iones y electrólitos de hasta 60.000 daltons de peso molecular. Esos poros pueden ser tanto de carácter proteico como fenestraciones o "huecos" intra o intercelulares [33].
- **Difusión:** La difusión pasiva consiste en el paso de una sustancia a través de la membrana biológica en función del gradiente de concentración; es decir, pasando de la zona de mayor concentración a la de menor concentración. Es el mecanismo más importante de todos cuantos puede utilizar el tóxico, interviniendo sobre todo en la absorción por vía respiratoria y digestiva [33].
- **Trasporte facilitado:** Utiliza como mediadores grandes moléculas de proteína de la membrana celular, donde forma específica para cada sustrato se une a una molécula de este, y mediante un cambio de conformación molecular y posterior liberación ayuda al sustrato a pasar de un lado al otro de la membrana [32].
- **Trasporte activo:** El transporte activo corresponde al paso de sustancias a través de la membrana en contra de un gradiente de concentración. Ello se produce gracias a un transportador específico o "carrier", con consumo de energía en forma de ATP [33].

2.7.2. Distribución: proceso en el que tiene lugar el transporte del tóxico desde su lugar de absorción hasta el órgano diana y hasta otros órganos donde va a ser eliminado, metabolizado, acumulado, etc. [32].

2.7.3. Localización, acumulación o fijación: En virtud de organotropismo (afinidad química de una sustancia o microorganismo por un tejido u órgano determinado), los tóxicos pasan de la circulación a ciertos tejidos, sobre los que se fijan para actuar o para permanecer depositados [34].

2.7.4. Eliminación: La excreción de los tóxicos se efectúa por medio de la orina, bilis heces y, una proporción de los compuestos volátiles, por el aire espirado. Menores cantidades se eliminan por la leche, el sudor y la saliva, que, aunque cuantitativamente no sean relevantes, en algunos casos, como en el de la leche, tiene importancia y peligro para quienes ingieran esta última como alimento [32].

2.8. Plaguicidas organofosforados

El término plaguicida es una palabra compuesta que comprende todos los productos químicos utilizados para destruir las plagas o controlarlas. En la agricultura, se utilizan herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas y rodenticidas. Para la OMS un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también para aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos [35].

La segunda guerra mundial trajo aparejada una gran revolución de la industria química. En dicho marco aparecieron los organofosforados como desarrollo exclusivamente militar (gases neurotóxicos) y luego de la guerra, con un amplio uso agrícola. Así aparecieron en los '50 el paratión y el malatión, organofosforados que se consolidaron como insecticidas principalmente agrícolas y su uso se incrementó enormemente con la prohibición del uso de los organoclorados [36].

Los organofosforados son sustancias orgánicas de síntesis, conformadas por un átomo de fósforo unido a 4 átomos de oxígeno o en algunas sustancias a 3 de oxígeno y uno de azufre. Una de las uniones fósforo-oxígeno es bastante lábil y el fósforo liberado de este "grupo libre" se asocia a la acetilcolinesterasa inhibiendo la transmisión nerviosa y provocando la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica que lo posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran bioacumulación [36].

Esta familia de plaguicidas son fundamentalmente ésteres del ácido fosfórico. Se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente con

relación a los organoclorados, pero más peligrosos para el hombre debido a que tienen un alto grado de toxicidad. Muchos de ellos son sistémicos, es decir, son absorbidos por las plantas e introducidos en el sistema vascular de los vegetales, actuando tanto en los insectos chupadores como también sobre las personas que ingieren el alimento, aunque éste sea previamente lavado. Son ejemplos el Dimetoato y Fosfamidón [37].

Se han registrado desde hace varias décadas gran cantidad de casos de resistencia de insectos a los organofosforados, debido principalmente al uso excesivo de estos insecticidas. Además, existe resistencia cruzada con los carbamatos. Esto quiere decir que la resistencia a carbamatos trae aparejada resistencia a los organofosforados, y viceversa. Debido a estos grandes problemas debemos ser en extremo cuidadosos con el uso de estos insecticidas y no sobrecargar al cultivo con los mismos [36].

2.9. Efectos de plaguicidas organofosforados en el ambiente

Los efectos indeseables de los plaguicidas sobre el ambiente se pueden agrupar en aquellos que ocurren: a corto, medio y largo plazo. Los plaguicidas actúan a corto plazo sobre el ambiente cercano al lugar donde se aplican. Esto causa, por un lado, la contaminación inmediata del ambiente abiótico (suelos, aguas superficiales y subterráneas y aire) y por otro, la muerte de diversos organismos sensibles a los que no se deseaba afectar, como los insectos que son enemigos naturales de las plagas o los que el hombre considera como benéficos. A corto plazo, los plaguicidas causan también la muerte de los organismos susceptibles entre los que constituyen la plaga y afectan momentáneamente el equilibrio fisiológico de todos los organismos expuestos a ellos, incluidos los seres humanos [8].

Cuando los plaguicidas son persistentes o permanentes y se utilizan con frecuencia, se requerirán de años para degradarse. Así, aunque el producto deje de usarse en un lugar determinado, por sus características de persistencia (o las de sus productos de transformación, isómeros o impurezas) contaminan los suelos, los sedimentos y los mantos freáticos. Cuando el surgimiento de especies resistentes y las alteraciones ecológicas y, por ende, agronómicas, causan cambios en el uso del suelo, surgen problemas adicionales. Uno de los más importantes por sus repercusiones a largo plazo es la exposición indirecta de la población a los plaguicidas, por la ingestión continua de alimentos contaminados con residuos. Esto puede suceder, por ejemplo, cuando sin considerar los efectos a largo plazo, se establecen cuencas lecheras o productoras de alimentos para animales, en

regiones que previamente han sido contaminadas con residuos de sustancias permanentes y persistentes [8].

Los compuestos organofosforados son sustancias poco persistentes en el ambiente, por lo que sus efectos sobre él se observan fundamentalmente a corto plazo, es el grupo de insecticidas más grande y versátil en uso, son efectivos contra los insectos y arácnidos por contacto, ingestión acción fumigante, los esteres organofosforados como el Dimetoato es absorbido por raíz y follaje. Este tipo de plaguicidas tienen la importante ventaja de que son degradados biológico y químicamente en forma rápida en la planta, animales y en el suelo a materiales atóxicos. Generalmente los organofosforados son degradados mediante hidrolisis en la planta, a excepción de los compuestos que contienen el grupo tioeter-oxidado, la tasa de transformación química y bioquímica puede depender de factores como la naturaleza del compuesto, método de aplicación, estado de desarrollo del cultivo y clima, propiedades fisicoquímicas del compuesto pueden influenciar en la residualidad del mismo [38].

El Dimetoato posee una toxicidad en aves que varía de moderada a extremadamente alta, ya que ellas metabolizan lentamente este compuesto. Es altamente tóxico para abejas e invertebrados acuáticos (plecópteros (moscas de piedra) y anfípodos), así como moderadamente tóxico para peces. En este último grupo se han observado los siguientes efectos: cambio en la sangre (similares a la anemia), movimiento errático, pérdida del equilibrio, cambios histológicos en branquias, alteraciones fisiológicas en hígado y riñón, retraso en el desarrollo de los embriones y muerte. En algunas especies de sapos se han descrito cambios en la coloración de la piel. Las bacterias son menos susceptibles a este compuesto que otros organismos superiores. El Dimetoato muestra un efecto ligeramente repelente para algunas especies de abejas y no es tóxico para las plantas. En algunas especies domésticas (borregos y terneros) se han observado signos de intoxicación moderada incluyendo: salivación, lagrimeo. diarrea, rinitis y anorexia [39].

2.10. Dimetoato

El Dimetoato ($C_5H_{12}NO_3PS_2$) es un insecticida (inhibidor de la colinesterasa) que pertenece a la familia de los organofosforados. Entra rápidamente en el cuerpo en contacto con todas las superficies de la piel y los ojos. Las exposiciones repetidas a los inhibidores de la colinesterasa como Dimetoato pueden, sin previo aviso, causar una mayor susceptibilidad a dosis de cualquier inhibidor de colinesterasa [40]. Este ingrediente activo fue incluido en la categoría toxicológica II, considerado como moderadamente tóxico, según la última clasificación de la OMS [41].

El Dimetoato es un insecticida sistémico y acaricida que se considera también como un pesticida carbamato, debido a la existencia de un grupo carbamato en su estructura química. El Dimetoato causa la muerte de insectos por contacto e ingestión y en los humanos se absorbe fácilmente a través de la piel y por ingestión. Se han detectado residuos de Dimetoato y sus análogos oxidados en el suelo, frutas, verduras e incluso en leche de vaca. Su vida media es de 12 a 206 días a 25 °C [42].

La persistencia del Dimetoato en el ambiente es baja. En suelo tiene una vida media que varía de 2.5 (en zonas lluviosas) hasta 120 días; sin embargo, el valor más representativo es de alrededor de 20 días. Por su parte, su vida media en agua (ríos) es de 8 días y en el aire húmedo es degradado fotoquímicamente por reacciones de hidrólisis y oxidación [39].

En suelo sufre una biodegradación rápida que depende de la temperatura, contenido de humedad, pH, tipo de suelo, número de microorganismos, cantidad de plaguicida aplicado y grado de evaporación. Por ello, se biodegrada en mayor proporción en suelos pesados, con pH alcalino y en los cuales se han aplicado concentraciones elevadas de Dimetoato. Se adsorbe muy débilmente a las partículas de suelo, por lo que su lixiviación hasta aguas subterráneas puede ser considerable. La volatilización es un mecanismo de disipación importante de este plaguicida en la superficie de suelos secos, entre un 23 y 40 % del Dimetoato aplicado se pierde por evaporación [39].

En los cuerpos de agua no se une a los sedimentos o sólidos suspendidos y se degrada rápidamente por medios químicos y biológicos. Sin embargo, la hidrólisis tanto en agua como en suelo contribuye significativamente a eliminar este plaguicida del ambiente, sobre todo en medio alcalino y en presencia de algunos iones metálicos (Cu^{++} , Fe^{+++} , Mn^{++}), produciendo Desmetildimetoato como principal producto de degradación. No se bioacumula en los organismos acuáticos [39].

Es absorbido por las plantas, alcanzando en el néctar niveles tóxicos para algunos insectos. No obstante, puede ser metabolizado por los vegetales mediante reacciones de hidrólisis y oxidación, tanto en su superficie como en el interior. Su vida media en plantas varía de 2 a 5 días y después de 15 a 30 días desaparece por completo dependiendo de la especie vegetal y de las condiciones climáticas. Puede formarse como producto de la degradación de otros plaguicidas (Formotón) [39].

2.11. Composición de los plaguicidas

Es un insecticida fosforado con efecto por contacto e ingestión y es absorbido por las plantas en forma sistémica, siendo absorbido por el follaje y puesto a circular dentro de la misma, llegando a brotes nuevos, sitio preferido por muchas plagas. Posee acción prolongada, especialmente sobre insectos-plagas chupadores, masticadores, minadores, raspadores y barrenadores [43]. Es un insecticida acaricida sistémico órgano fosforado inhibidor moderado de la colinesterasa y tóxico para humanos y animales de sangre caliente.

Recordando que ambos insecticidas son de casas comerciales diferentes, se presenta su composición a continuación: para el caso del Plaguicida A que contiene el ingrediente activo Dimetoato: 0,0-Dimetil-S-(N-metilcarbamoilometilo)-fosforoditioato, 400 g/L de la formulación a 20°C. Para el Plaguicida B, el cual cuenta con el mismo ingrediente activo, posee una constitución equivalente a 400 g de i.a./l, es decir, 38,60% e ingredientes inertes como Disolventes, emulsificantes y compuestos relacionados 61.40 %

3. METODOLOGÍA

3.1. Obtención y preparación del material biológico

El primer paso fue obtener la tierra de un vivero ubicado en el municipio de Soacha, Cundinamarca; se realizó un cuarteo de la tierra hasta tener una muestra de poco más de 500g el cual fue llevado al laboratorio de suelos en el Instituto Agustín Codazzi (IGAC); para que se analizara la muestra brindando datos como el pH, porcentaje de arena, arcilla y limo, carbono total, entre otros como se muestra en el Anexo 1. Análisis del suelo.

Ilustración 1. Proceso de cuarteo de la tierra



Fuente: Autor.

Al tener dichos resultados, siendo un suelo óptimo para el crecimiento de lechugas, se realiza la tamización de la tierra con el tamiz de 2mm, el cual solo permitía el paso a partículas de ese tamaño además de retirar elementos extraños como:

- Ramas
- Raíces
- Plásticos
- Semillas
- Escarabajos
- Entre otros.

Ilustración 2. Tamización



Fuente: Autor

Ya que el suelo, según los análisis del laboratorio de suelos tenía un pH de 5 (ácido), se debió añadir cal para subir el pH a 6 o 7 (neutro). Se utilizó cal a una proporción de 0,5% del peso del suelo. Adicionalmente ya que se tenía los porcentajes de arena (56,7%), limo (41,1%) y arcilla (2,2%); con el triángulo de texturas del suelo se dedujo que su textura era franco-arenoso.

Al adquirir las semillas de la lechuga 'Batavia' sin curar se procedió a seleccionar de una misma fuente las semillas, tanto para el pre-ensayo como el ensayo principal, para su posterior germinación en bandejas de 28,5cm de ancho y 36cm de largo, dichas bandejas se cubrieron con papel celofán transparente y luego con toallas de cocina humedecidas con agua donde se colocaron las semillas de lechuga 'Batavia'; una vez lista la bandeja se cubrió con otra del mismo tamaño y una bolsa negra. En estas bandejas se pueden acomodar más de 400 semillas de lechuga 'Batavia' sobre el papel humedecido con agua para su germinación, una vez pasada una semana, se procedió a realizar el trasplante a bolsas de siembra, en el momento que las plantas posean de 2 a 4 hojas verdaderas se aplica el plaguicida.

Las bolsas de siembra en las cuales se llevó a cabo los tratamientos fueron de plástico no poroso, el suelo a utilizar se le realizó un análisis básico Q1 ejecutado por el Laboratorio Nacional de Suelos del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC) que incluye capacidad de intercambio catiónico, calcio, magnesio, potasio, sodio, fósforo, aluminio de cambio, saturación de bases, carbón orgánico, textura y pH; además de realizar una clasificación del suelo y tamizado de 2 mm para su homogenización. Esto se hizo antes del pre-ensayo, el suelo fue proporcionado por un vivero ubicado en la localidad de Soacha, Cundinamarca.

El lugar de ejecución del ensayo fue un invernadero ubicado en un patio descubierto donde se trabajará con la luz natural, el riego de cada plántula se llevó a cabo por goteo. Las condiciones ambientales fueron monitoreadas y reportadas durante el curso del estudio de forma diaria. Adicionalmente dentro de los 28 días en los que se desarrolló la segunda fase (siembra en bolsas de cultivo) se realizó un control día de por medio para evaluar los efectos en cada tratamiento, como lo son el color de la planta y la altura contra las plantas control no tratadas. Esto aplica para el ensayo preliminar y el ensayo final.

Ilustración 3. Invernadero casero



Fuente: Autor.

El sistema de riego se construyó con mangueras de 16 mm de diámetro, se utilizó válvulas tipo mariposa para regular el flujo de cada sección y conectores en forma de T, el sistema tiene una medida de 2 m, es decir, son 6 líneas y cada una con 19 goteros y una línea más con 18 goteros.

Ilustración 4. Materiales del sistema de riego

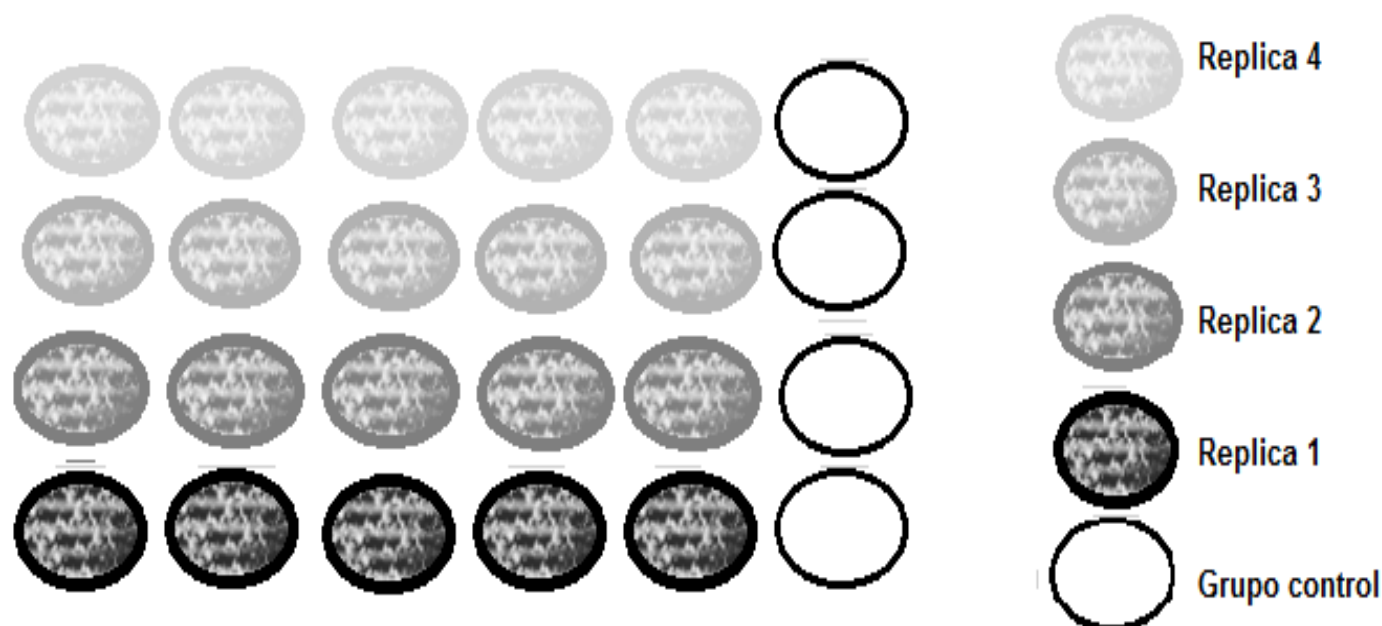


Fuente: Autor.

3.2. Ensayo preliminar para establecer las concentraciones

Se procedió a realizar dos pre-ensayos simultáneos para identificar aquellas dosis que generan modificación física en la forma o tamaño de la raíz de la plántula de lechuga o que presentaran marchites, sin ocasionar la muerte de los individuos, es decir, que aquellas dosis que generaron la muerte de las plantas no se tuvieron en cuenta para el ensayo principal donde se halló la concentración efectiva 50 (CE₅₀). Para cada pre-ensayo se establezco 5 tratamientos más el grupo control con 4 réplicas cada uno; cada replica incluyó 3 plántulas, cada una en una bolsa de siembra diferente, por consiguiente, cada tratamiento estuvo compuesto por 12 semillas germinadas de lechuga, las cuales fueron expuestas por aspersión al plaguicida diluido en agua; esto se realizó para cada una de las dos formulaciones de Dimetoato por igual que se evaluaron en el presente trabajo, es decir, que para el pre-ensayo las concentraciones para el Plaguicida A y B fueron las mismas.

Ilustración 5. Modelo experimental, pre-ensayo.

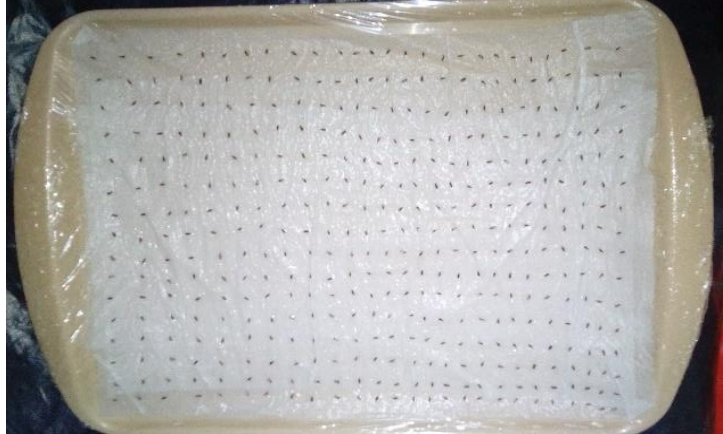


Fuente. autor.

La primera parte del pre-ensayo, germinación en bandejas por una semana; se realizó el trasplante a bolsas de siembra y una vez las plántulas presento dos o tres hojas verdaderas, se aplicó la solución preparada con el plaguicida, el pre-ensayo tuvo una duración de 28 días desde la aplicación del xenobiótico. Las condiciones ambientales a las cuales fueron expuestas las plántulas se monitorearon de forma diaria al igual que la revisión de algún cambio en la plántula; ya sea en su crecimiento o en su color, sin embargo, el tamaño de la raíz se revisó el día 28 después de la exposición al xenobiótico. Aquellos tratamientos que manifestaron un efecto tóxico no letal entre el 20% y 80% de la población harán parte del ensayo toxicológico principal.

El día de inicio de la germinación de las semillas de lechuga 'Batavia' para el pre-ensayo fue el lunes 7 de noviembre de 2016 en una bandeja con papel de cocina humedecido con agua; se cubrió con otra bandeja y se dejó germinar dentro de una bolsa negra por una semana, el sábado 13 de noviembre de 2016 se realizó el trasplante de las semillas a las bolsas de siembra para que estas continuaran creciendo hasta que desarrollaran al menos tres hojas verdaderas. Se realizó un seguimiento fotográfico del crecimiento de las semillas el cual se puede observar en el Anexo 2. Seguimiento fotográfico, pre-ensayo.

Ilustración 6. Fase 1 de la germinación, pre-ensayo



Fuente: Autor.

El lugar donde se realizó la segunda parte de la germinación (trasplante), fue en un invernadero casero donde se les suministró a las plantas luz solar y riego por goteo con un periodo de 1 minutos a horas de la tarde (3:00pm) todos los días, se registró de forma diaria la temperatura y la humedad relativa tres veces al día (8:00am, 2:00pm y 8:00pm), además de las condiciones máximas y mínimas registradas durante el día (11:00 pm). Este proceso se realizó con un termohigrometro digital con sonda, el cual posee una exactitud en la temperatura de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ y en la humedad relativa una exactitud de $\pm 5\%$. Una vez presentaron entre tres y cuatro hojas verdaderas se procedió a realizar las concentraciones para los Plaguicida A y Plaguicida B.

Ilustración 7. Fase 2 de la germinación, pre-ensayo



Fuente: Autor.

El día 6 de diciembre del 2016, se prepararon las diluciones de los insecticidas Plaguicida A y Plaguicida B en agua destilada basados en las dosis recomendadas por hectárea, proyectándolo a la cantidad de plantas a trabajar en el pre-ensayo. Ya que la aspersión del insecticida se realizará con una botella pequeña de spray directamente en la planta, se calculó cuanta cantidad de líquido era necesario para cubrir la plántula con el xenobiótico, se concluyó debido al tamaño de la plántula de lechuga, que tres aspersiones por planta era más que suficiente.

Con el frasco que se utilizó para las pruebas, se realizó un promedio de la cantidad de agua restante después de 20 aspersiones con el spray, las cuales tuvieron 4 repeticiones, dando como resultado 3,08 gramos de agua, esto se dividió entre los 20 disparos ejecutados para saber qué cantidad de solución se iba por disparo, después se multiplico por lo cantidad de aspersiones para cubrir a una plántula con la solución, con lo cual se obtuvo un valor de 0,46 gramos de solución por plántula.

Según el ministerio de agricultura de España, se encontró que en cada hectárea de siembra de lechuga, hay aproximadamente 70.000 lechugas. Por consiguiente, al multiplicar la cantidad de lechugas que hay en una hectárea por la cantidad de líquido que se usará para cubrir la plántula, dará como resultado la cantidad de solución a usar por hectárea en un cultivo.

$$\text{solución por hectárea} = 32364,9375 \text{ gramos} = 32,3649375 \text{ Kg}$$

Ya que un litro de agua pesa 1 kilogramos, se puede deducir que 32,36 Kg es equivalente a un volumen de 32,36 litros de solución a emplear por hectárea. Basados en las dosis recomendadas de los plaguicidas a utilizar, Plaguicida A y Plaguicida B, la cual es de un litro de producto por hectárea; se deriva que de los 32,36 litros de solución a usar, un litro corresponde al producto insecticida. Ya que la solución que se usara por plántula es de 0,46 ml se multiplicara por 30 para tener la suficiente cantidad de solución para el ensayo, lo cual equivale a un valor de 13,8 ml de solución por tratamiento.

Para realizar las 5 concentraciones empleadas en el ensayo preliminar, se usó de base la concentración más alta y de esta diluir hasta que se obtuvieron las otras 4, por consiguiente, se preparó un poco más de solución, es decir que no fueron 13,8 ml sino 15ml de solución por tratamiento. Ya que se necesita una reacción fitotóxico se utilizó 10 veces más de cantidad del producto recomendada, es decir 10 L (10000 ml) de producto por hectárea. Por ende, si para 32,4 L de solución se necesitan un litro de plaguicida, como se había mencionado anteriormente, para un litro de

solución es necesario emplear 308,64 ml de plaguicida. Al tener este valor de base, se halló la cantidad de plaguicida a utilizar para preparar una solución de 15 ml necesaria para el pre-ensayo; que corresponde a 4,63 ml de plaguicida.

Apoyado en lo anterior, se deduce que 4,63 ml de plaguicida más 10,37 ml de agua, para un total de 15 ml, constituyeron la solución número uno del ensayo. Para los cuatro restantes se usó la mitad de la solución anterior más 7,5 ml de agua destilada; de esta manera cada tratamiento quedo con la mitad de concentración que el tratamiento anterior.

Tabla 2. Concentración por tratamiento

Tratamiento (Plaguicida A; Plaguicida B)	Concentración de plaguicida en ml/L
1; A	308,64
2; B	154,32
3; C	77,16
4; D	38,58
5; E	19,29

Fuente: Autor.

El día 7 de diciembre del 2016 se aplicaron los tratamientos a las plantas de lechuga con los frascos de espray, para cada insecticida se asignaron 5 botellas, y por cada tratamiento un espray. Se aplicó tres disparos de solución a cada plántula, al grupo control o testigo se le aplico solamente agua. Se organizaron las plantas de tal forma que se rotuló los tratamientos 1,2,3,4,5 para el Plaguicida A y los del tratamiento A, B, C, D, E para el Plaguicida B, siendo el tratamiento A y 1 los que contienen mayor concentración del plaguicida; mientras que los tratamientos E y 5 los de menor concentración de plaguicida. Se aplicó el xenobiótico a cada replica en orden ascendente y luego se acomodaron de forma aleatoria en el invernadero.

Ilustración 8. Día 1: Aplicación de plaguicida, 7 de diciembre



Fuente: Autor.

Al finalizar, se tendrá en cuenta los individuos que presentaron muerte durante los 28 días de observación, y compararlos con los resultados del grupo testigo; estos datos se ingresan al programa ProStat y se determinará la concentración letal del Plaguicida A y el Plaguicida B en función del porcentaje de las plántulas que tuvieron la respuesta más alta negativamente en el pre-ensayo, su muerte.

3.3. Ensayo final

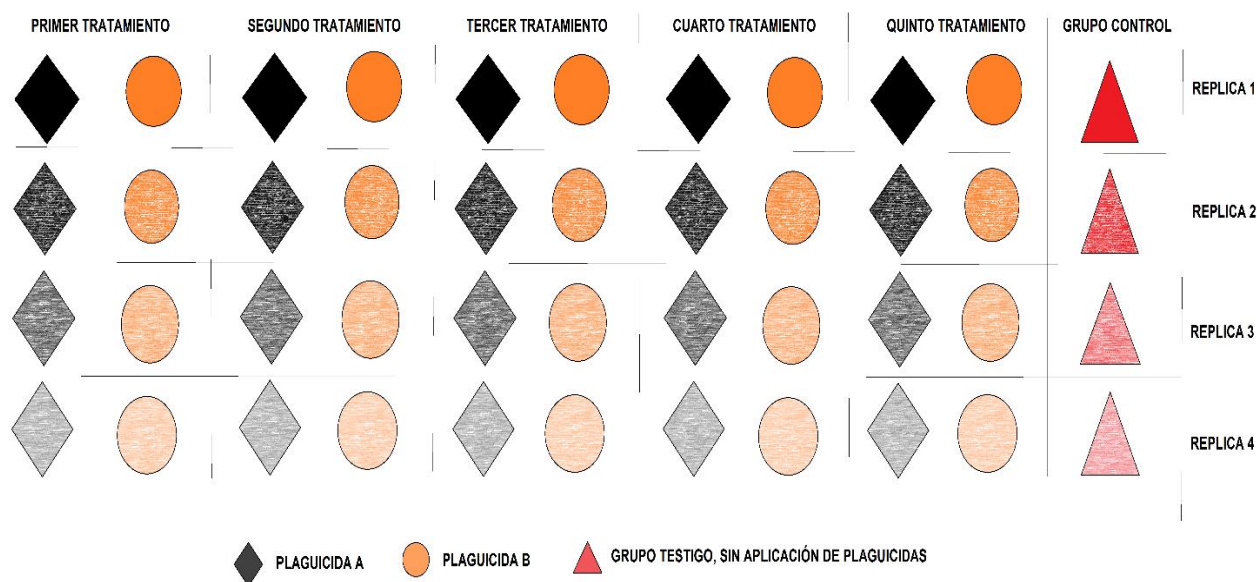
Para realizar el ensayo toxicológico principal se analizaron los cambios físicos en la planta *Lactuca Sativa L.*, como el color, el tamaño de la plántula y de la raíz, a causa de la utilización de los insecticidas con formulaciones distintas de Dimetoato; esto se llevó a cabo según el método 227 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) sobre ensayos en plantas terrestres “Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test”.

Para la germinación de las plántulas se realizó el mismo procedimiento mencionado con anterioridad en el ensayo preliminar; en bandejas con papel de cocina humedecido con agua, para validar la prueba las semillas deben tener un porcentaje de emergencia del 70% como lo establece el método 227 de la OCDE. Luego se procedió a trasplantar las plántulas a las bolsas de siembra, cada bolsa tendrá solo una plántula de lechuga ‘Batavia’ para asegurar las condiciones de crecimiento adecuadas, evitando el hacinamiento y el sombreado de las plantas causado por la aglomeración de varias plántulas cercanas entre sí.

Para el ensayo final, se inició la germinación en bandeja (fase 1) el día 3 de enero de 2017; al igual que el pre-ensayo se controló la temperatura y se usaron las mismas bandejas cubiertas con una bolsa negra, se realizó el trasplante para continuar con la germinación (fase 2) el día 11 de enero de 2017; donde se registraba la temperatura y la humedad relativa de forma diaria. Para las concentraciones de plaguicida se tuvieron en cuenta los resultados del ensayo preliminar para determinar las dosis adecuadas que no provoquen la muerte de más de la mitad de la población.

Se hizo de manera simultánea dos bioensayos, cada uno con 5 tratamientos más un grupo control para ambos plaguicidas, cada tratamiento tendrá 4 repeticiones para reducir la variabilidad dentro del grupo, por lo que es más fácil de detectar diferencias entre los ensayos. Ambos plaguicidas, A y B (concentración emulsionable), poseen una composición de Dimetoato de 400g/L cada uno. Los cambios visibles en la plántula y condiciones ambientales fueron monitoreados de forma diaria durante 28 días después de la aplicación del xenobiótico o plaguicida.

Ilustración 9. Modelo experimental, ensayo final.



Fuente: Autor.

La disposición física de las plántulas fue aleatoria, es decir la ubicación de las bolsas en el invernadero no tuvieron orden alguno, por ende, se marcarán las bolsas con el número de tratamiento y la réplica para su posterior observación e identificación. A continuación, se presenta una tabla acerca de las condiciones ambientales de crecimiento adecuado para 10 cultivos, en los cuales se encuentra la lechuga, que establece el método de la OCDE.

Tabla 3. Condiciones ambientales de crecimiento

PARAMETRO	VALOR	PERIODO
Humedad relativa	70±5 %	Durante los periodos de luz
	90±5 %	Durante los periodos de oscuridad
Temperatura	25±30 °C	Durante el día
	20±30 °C	Durante la noche
Fotoperiodo	16 h de luz	suponiendo una longitud de onda media de 400 a 700 nm
	8 h de oscuridad	
Luz (luminancia)	350±50 µE/m ² /s	

Fuente: Método 227 de la OCDE: Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test, [44].

Una vez aplicada cada una de las diferentes concentraciones, dependiendo del plaguicida, a cada plántula incluyendo el grupo control al aplicarle solo agua, se ubicaron de forma aleatoria en el invernadero. Al igual que en el pre-ensayo, se registrará de forma diaria la temperatura y la humedad relativa cuatro veces en el transcurso del mismo día (8:00 am, 2:00 pm, 8:00 pm, 11:00 pm) además de las medidas máximas y mínimas (11:00 pm).

Los puntos finales de medición son el peso seco del vástago y una evaluación de los efectos perjudiciales visibles en diferentes partes de las plantas como anomalías en la apariencia de las plantas jóvenes, retraso del crecimiento, clorosis, decoloración, la mortalidad y los efectos sobre el desarrollo de la planta. Estas mediciones y observaciones se comparan con los de las plantas de control no tratadas [44].

El día 31 de enero de 2017 se aplicó los diferentes tratamientos a las plantas de lechuga 'Batavia', esto se realizó con un frasco de espray para cada tratamiento, de la misma manera que se administró en el pre-ensayo, para el grupo control; se dispuso un espray con agua. A todas las plantas se le aplicó tres aspersiones. Una vez finalizado el periodo de observación establecido por el método de la OCDE 227, el cual corresponde a 28 días, se procedió a medir el largo de la raíz de cada una de las plantas y se guardaron en sobres de papel blanco para después ser transportadas al laboratorio y realizar el pesaje de las mismas. Para evitar que las plantas perdieran humedad se efectuó este proceso el jueves 2 de marzo de 2017 en horas de la mañana.

Ilustración 10. Sobres con las plantas por tratamiento



Fuente: Autor.

Una vez terminado el pesaje fresco de las plantas; se procedió a introducirlas en un horno donde se mantuvieron a una temperatura constante de 50 grados centígrados durante 23 horas y 56 minutos, al día siguiente se procede a pesar cada planta para obtener el peso seco de cada una, lo cual se realizó el lunes 6 de marzo de 2017.

El método más utilizado para determinar la materia seca es el de la eliminación del agua libre por medio del calor, seguida por la determinación del peso del residuo, siendo necesario someter las muestras a temperaturas que aseguren un secado rápido para eliminar pérdidas por acción enzimática y respiración celular, considerando que para no modificar la composición del material original por secado a temperatura demasiado baja o demasiado alta, un valor intermedio de temperatura (60°C) y 24 h de secado con ventilación forzada, son las condiciones más idóneas [45].

Para hallar el porcentaje de humedad, basados en el manual de técnicas de la FAO, se utiliza la siguiente formula [46]:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

Ilustración 11. Plantas secas a 50°C después de un día



Fuente: Autor.

Para el análisis estadístico se trabajó con el software SPSS mediante los métodos ANOVA, y la correspondiente prueba posteriori DMS. Los anteriores análisis estadísticos se realizaron por cada plaguicida utilizado en el ensayo, donde los factores son las diferentes variables respuestas (medida de la raíz, la diferencia de la longitud de la plántula, el peso fresco y el peso seco) analizadas por cada plaguicida, y los niveles son los promedios por tratamiento pertenecientes a cada variable respuesta, la unidad experimental fue la lechuga variedad 'Batavia'.

Un análisis de varianza (ANOVA) prueba la hipótesis de que las medias de dos o más poblaciones son iguales. Los ANOVA evalúan la importancia de uno o más factores al comparar las medias de la variable de respuesta en los diferentes niveles de los factores. La hipótesis nula establece que todas las medias de la población (medias de los niveles de los factores) son iguales mientras que la hipótesis alternativa establece que al menos una es diferente [14].

Para ejecutar un ANOVA, debe tener una variable de respuesta continua y al menos un factor categórico con dos o más niveles. Los análisis ANOVA requieren datos de poblaciones que sigan una distribución aproximadamente normal con varianzas iguales entre los niveles de factores. Sin embargo, los procedimientos de ANOVA funcionan bastante bien incluso cuando se viola el supuesto de normalidad, a menos que una o más de las distribuciones sean muy asimétricas o si las varianzas son bastante diferentes [14]. Después de ejecutar el análisis ANOVA, se desarrolla la prueba de la mínima diferencia significativa DMS para cada bioensayo final (Plaguicida A y Plaguicida B).

Mediante el método DMS, se identificaron aquellas parejas de tratamientos que tienen una diferencia entre las medias de sus datos, lo cual se aplica para cada plaguicida de forma independiente. Seguido con el programa ProStat, se calcula la concentración efectiva 50 usando los resultados del grupo testigo como los valores normales promedios de comportamiento de la planta de lechuga durante el periodo de crecimiento. Esto se realiza con el modelo Probit, el cual mide la relación entre la intensidad de un estímulo y la proporción de casos que presentan una cierta respuesta a dicho estímulo. Es útil para las situaciones en las que se dispone de una respuesta dicotómica que se piensa puede estar influenciada o causada por los niveles de alguna o algunas variables independientes, y es particularmente adecuada para datos experimentales. Este procedimiento le permite estimar la intensidad necesaria para que un estímulo llegue a inducir una determinada proporción de respuestas, como la dosis efectiva para la mediana [14].

Para finalizar, se halló la concentración efectiva 50 de cada una de las variables respuesta analizada mediante el software ProStat, teniendo como valor de normalidad aquellos valores que estaban por debajo de la mitad del promedio del grupo control, es decir, que aquellas plántulas que presentaran un valor inferior se tomaron como plantas afectadas por el toxico. Este proceso se realizó con el promedio las variables respuesta diferencia de altura, longitud de raíz, peso fresco y peso seco.

Para las gráficas dosis respuesta, se utilizó el programa de Excel, se calculó un promedio de los valores obtenidos durante los 28 días de observación de cada una de las variables respuesta diferencia de altura, longitud de raíz, peso fresco y peso seco, según cada plaguicida y la concentración utilizada por tratamiento, al ser comparadas con el valor normal, el cual se tomó como la mitad del promedio de las variables del grupo testigo, aquellas que fueran inferior a este valor serían las afectadas, luego se halló el porcentaje de afectación consiguiendo así un valor promedio por replica. Este proceso se realizó para cada plaguicida por separado.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Fase I: Ensayo preliminar, cálculos para las concentraciones y concentración letal 50

Una vez recolectados los datos al finalizar el proceso de observación del pre-ensayo, se observa en la Tabla 4. Individuos afectados por plaguicida donde se indicó el número de individuos afectados por el xenobiótico al día 28 de la aplicación de este, es decir, al finalizar el periodo de evaluación. Recordando que se trabajó con la misma cantidad de tratamientos para el Plaguicida A y Plaguicida B; cada plaguicida tiene cinco concentraciones representadas por la cantidad de insecticida por cada litro de solución; y un mismo grupo control para ambos químicos, al cual no se le aplicó ningún plaguicida.

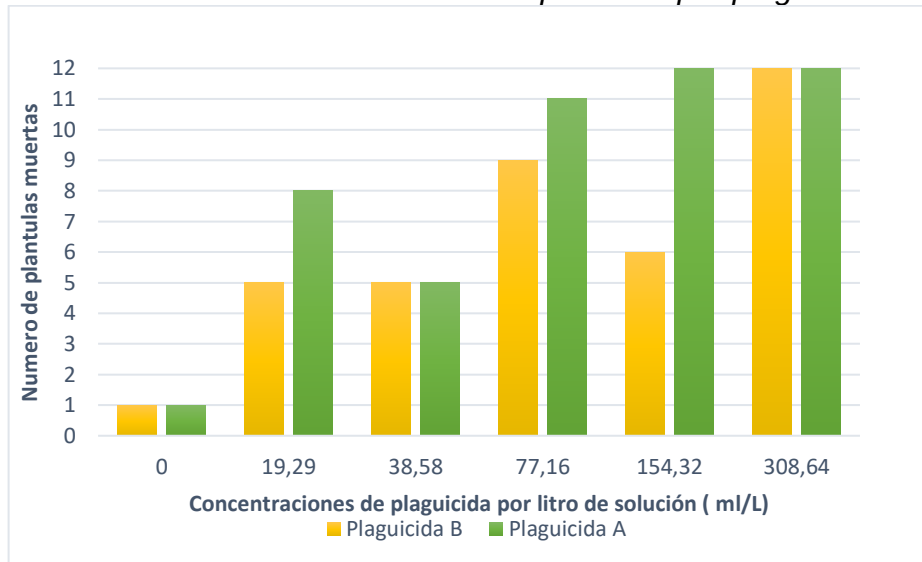
Tabla 4. Individuos afectados por plaguicida, pre- ensayo

PLAGUICIDA	PLAGUICIDA A					
Tratamiento (ml/L)	308,64	154,32	77,16	38,58	19,29	0
Muertes	12	12	11	5	8	1
Cambio en el color	0	0	1	4	4	4
Sin cambio	0	0	0	3	0	7
PLAGUICIDA	PLAGUICIDA B					
Tratamiento	308,64	154,32	77,16	38,58	19,29	0
Muertes	12	6	9	5	5	1
Cambio en el color	0	1	1	3	3	4
Sin cambio	0	5	2	4	4	7

Fuente: Autor.

A continuación, en el Grafico 1. Número de muertes de plántulas por plaguicida. Se puede observar de forma más clara el número de plantas afectadas según cada plaguicida, el plaguicida A está representado por el color naranja y el Plaguicida B por el color amarillo. Ambos plaguicidas presentan más de la mitad de la población afectada de forma negativa, es decir, para ambos plaguicidas el porcentaje de muertes de plántulas por tratamiento fue del 50% en adelante; exceptuando los últimos dos tratamientos con menor cantidad de plaguicida (38,58 ml/L y 19,29 ml/L), el plaguicida B tiene un porcentaje de muertes de casi 42% (5 individuos muertos en ambos tratamientos). Las primeras dos columnas corresponden al mismo grupo control, al cual no se le aplicó ningún plaguicida.

Grafico 1. Número de muertes de plántulas por plaguicida.



Fuente: Autor.

El anterior grafico deja en evidencia que el Plaguicida A es más tóxico que el Plaguicida B, ya que incluso en la más baja concentración de plaguicida, afecto de manera negativa a más de la mitad de la población de plántulas, de 12 individuos murieron 9 por el Plaguicida A mientras que el Plaguicida B solo afecto 5 individuos bajo la misma concentración (19,29 ml/L de plaguicida). Adicionalmente, se halló la concentración letal 50 para ambos plaguicidas; donde la variable respuesta es la muerte de los individuos en cada uno de los tratamientos. Esto se desarrolló mediante el software ProStat, teniendo en cuenta que la única muerte en el grupo control fue de una planta en la replica 3 y que la población por replica era igual a 3 plántulas. Se aplicó el modelo Probit, ya que la variable respuesta es dicotómica y su gran uso en los análisis experimentales toxicológicos para saber si un toxico es o no perjudicial para el individuo.

Para el Plaguicida A dio una concentración letal 50 de 23,1466 ml/L (Anexo 4. Concentración letal 50, Plaguicida A.) mientras que para el Plaguicida B 46,6606 ml/L (Anexo 5. Concentración letal 50, Plaguicida B.). Esto nos indica que a pesar de que ambos plaguicidas tienen el mismo ingrediente activo en igual proporción correspondiente a 400ml/L de la solución, el Plaguicida A es más tóxico para los cultivos que el Plaguicida B, el cual duplica la concentración letal del Plaguicida A para eliminar al menos el 50% de la población. Apoyando así los resultados obtenidos en la gráfica descriptiva.

Esto se puede deber los ingredientes adicionales que posee cada plaguicida (coadyuvantes), ya que estos pueden aumentar o disminuir su acción tóxica sobre el individuo; ya sea porque facilitan el ingreso de la sustancia por los poros de la planta o porque acelera la reacción química entre la planta y el tóxico, recordando que ambos plaguicidas pertenecen a diferentes casas comerciales. Otro factor que puede perjudicar a las plántulas de lechuga, son las condiciones climáticas como la actividad lumínica o la temperatura, sin embargo, la tendencia de individuos afectados por el plaguicida A es evidentemente más fuerte en contraste al plaguicida B, adicionalmente el grupo control solo presentó una afección menor al 1%, lo cual muestra que estos factores no fueron la causa principal de la muerte de las plántulas, pero sí puede influenciar en los procesos toxicocinéticos y toxicodinámicos.

4.2. Fase II: bioensayos finales, obtención y desarrollo de las concentraciones administradas

4.2.1. Bioensayo Plaguicida A

El Plaguicida A resultó tener valores de mortalidad más altos que el Plaguicida B en el pre-ensayo; por consiguiente, se hicieron dos cálculos diferentes para cada plaguicida según su CL_{50-28} (Concentración letal 50-28) y la dosis umbral o dosis más baja en la cual se evidenciaron cambios en la plántula y una baja mortalidad de las mismas. Esta concentración letal se divide entre 10 y el resultado será la CL_{min} a utilizar, tomando esta como referencia para hallar las concentraciones siguientes. Adicionalmente se preparó una solución stock de 60 ml con la concentración más alta para cada plaguicida y de ahí diluir hasta llegar al tratamiento de menor concentración.

Para el Plaguicida A se utilizó una CL_{50-28} igual a 0,37 ml/L la cual se aproximó a 0,4 ml/L, basados en las fórmulas de concentración mínima (C_{min}) o concentración umbral y la ecuación para hallar la diferencia entre cada concentración (Δ); se determinaron los tratamientos a utilizar en el ensayo.

$$C_{min} = \frac{CL_{50-28}}{10} = \frac{0,4 \text{ ml/L}}{10} = 0,04 \text{ ml/L}$$

La concentración máxima será aquella que ocasiono cambios representativos en la población sin provocar la muerte de todas las plantas por tratamiento utilizadas basados en el pre-ensayo. Para el caso del Plaguicida A, la concentración máxima

(C_{max}) fue de 1,15 ml/L. Una vez obtenido el rango en que debe estar las dosis para el ensayo (C_{max} y C_{min}), se halló la diferencia que debe haber entre cada tratamiento.

$$\Delta = \frac{C_{max} - C_{min}}{4} = \frac{1,15 \frac{ml}{L} - 0,04 \frac{ml}{L}}{4} = 0,28 \frac{ml}{L}$$

Una vez obtenida la diferencia, se sumó dicho valor desde la concentración mínima correspondiente a 0,04 ml/L hasta llegar al tratamiento 5, que fue el tratamiento con mayor concentración de plaguicida; tal como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 5. Concentración de Plaguicida A por litro de solución

Tratamientos	Operación	Concentración final ml/L
1	$C_{min} = \frac{CL_{50-28}}{10}$	0,04
2	C _{min} + 0,3 ml/L	0,34
3	Tratamiento 2 + 0,3 ml/L	0,64
4	Tratamiento 3 + 0,3 ml/L	0,94
5	Tratamiento 4 + 0,3 ml/L	1,24

Fuente: Autor.

Dado que se preparó una solución de 60 ml con la concentración máxima de plaguicida; la cual se diluyó para preparar los demás tratamientos, se debe averiguar qué cantidad de dicha solución se debe diluir en agua destilada. Para el caso del Plaguicida A, se preparó una solución stock basados en una concentración de 1,24 ml/L correspondiente al tratamiento con mayor concentración de plaguicida. Como resultado, se obtuvo que son necesarios 0,09 ml de plaguicida para una solución de 60 ml.

Basados en lo anterior, se comenzó a calcular cuánto plaguicida es necesario por tratamiento y cuál es la cantidad de la solución stock para diluir en agua, todo esto teniendo en cuenta que los tratamientos preparados fueron de 15 ml de solución, es decir que se calculó la cantidad de solución stock necesaria y se diluirá con agua hasta completar 15 ml de solución. De igual manera se procedió con el Tratamiento 4 a una concentración de 0,94ml/L, el Tratamiento 3 a una concentración de 0,64ml/L, el Tratamiento 2 a una concentración de 0,34ml/L y el Tratamiento 1 a una concentración de 0,04ml/L.

4.2.2. Bioensayo Plaguicida B

Para el Plaguicida B, se realizó el mismo procedimiento anterior basados en la mortalidad de las plántulas en el ensayo preliminar según el plaguicida para determinar la CL_{50-28} , después con las mismas formulas se encontró la concentración mínima y la diferencia entre concentración.

$$C_{min} = \frac{CL_{50-28}}{10} = \frac{0,76 \text{ ml/L}}{10} = 0,076 \text{ ml/L}$$

Recordando que la concentración mínima hallada anteriormente; fue la concentración de Plaguicida B por litro se seleccionó como el primer tratamiento para el ensayo, y a esta se le sumo la diferencia entre concentraciones (Δ) para ir deduciendo los cuatro tratamientos restantes.

$$\Delta = \frac{C_{max} - C_{min}}{4} = \frac{3,4 \frac{\text{ml}}{\text{L}} - 0,076 \frac{\text{ml}}{\text{L}}}{4} = 0,83 \frac{\text{ml}}{\text{L}}$$

El valor de 0,83 ml/L será lo que se debe sumar al tratamiento 1 para hallar el siguiente, tratamiento 2, luego a este se le sumo de nuevo el valor de 0,831 para hallar el tratamiento 3 y así sucesivamente hasta culminar los 5 tratamientos, tal como se evidencia en la siguiente tabla.

Tabla 6. Concentración de Plaguicida B por litro de solución

Tratamientos	Operación	Concentración final ml/L
A	$C_{min} = \frac{CL_{50-28}}{10}$	0,08
B	$C_{min} + 0,8 \text{ ml/L}$	0,91
C	Tratamiento B + 0,8 ml/L	1,74
D	Tratamiento C + 0,8 ml/L	2,57
E	Tratamiento D + 0,8 ml/L	3,4

Fuente: Autor.

En seguida, se preparó la solución stock del Plaguicida B basados en la concentración más alta dentro de los tratamientos, la solución stock fue de 60 ml a una concentración de 3,5 ml/L de Plaguicida B. De esta solución se extraerá pequeñas cantidades para diluir en agua según lo requiera cada tratamiento. Esto indica, que para una solución de 60 ml es necesario utilizar 0,21 ml del Plaguicida B, igualmente una vez preparada esta solución, se empezó a diluir en agua destilada para obtener las concentraciones menores para los tratamientos restantes.

De igual manera se procedió con el resto de tratamientos para hallar la concentración adecuada de plaguicida en una solución de 15 ml para el Tratamiento D a una concentración de 2,57ml/L, el Tratamiento C a una concentración de 1,74ml/L, el Tratamiento B a una concentración de 0,91ml/L, para el Tratamiento A con una concentración de 0,08ml/L, se realizó el mismo procedimiento con la excepción de que no se usó la solución stock sino la solución del Tratamiento B.

4.3. Análisis descriptivo y estadístico por bioensayo

El viernes 3 de marzo del 2017 se realizó el pesaje de las plantas en una balanza digital, el cual corresponde al peso fresco de cada una de las plantas por tratamiento para el Plaguicida A, el Plaguicida B y el grupo control o testigo. Se organizaron las plantas de tal modo que se observe una comparación visual junto con el grupo control, evidenciando claras diferencias de tamaño tanto de sus hojas como de su raíz, tal como se muestra en las imágenes siguiente donde se encuentra los tratamientos con Plaguicida A (1,2,3,4,5) y los tratamientos con el Plaguicida B (A, B, C, D, E):

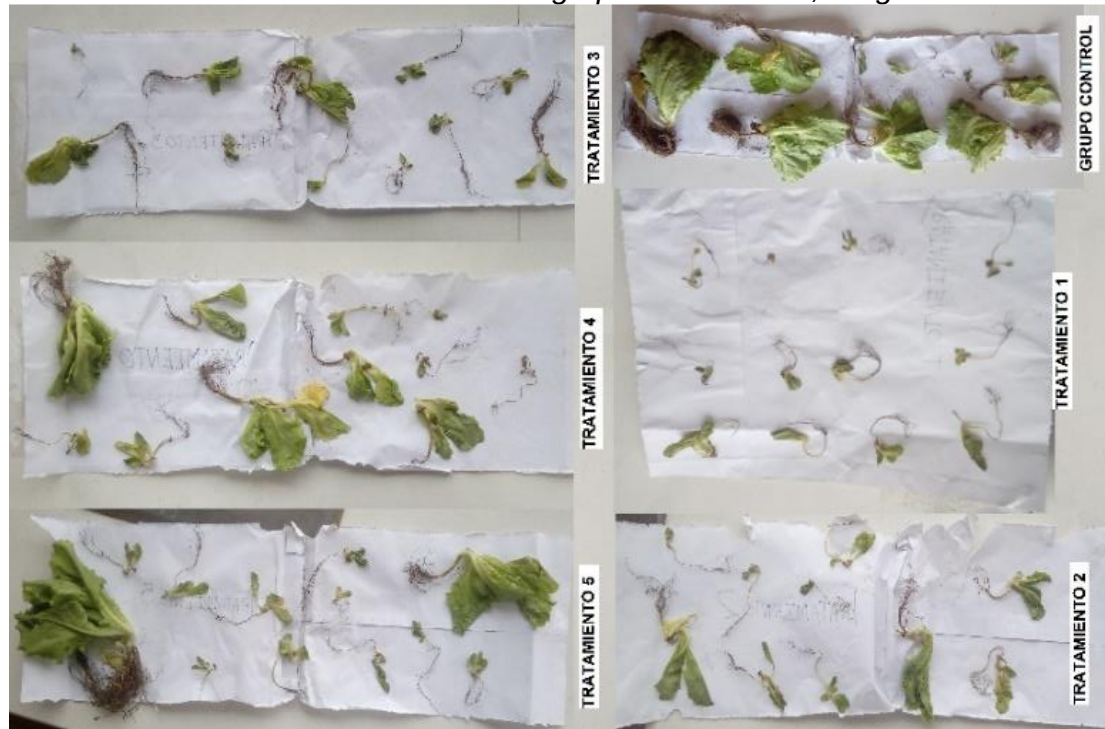
Recordando cuales fueron las concentraciones utilizadas para cada tratamiento según el plaguicida, basados en los resultados del pre-ensayo, se compararon mediante fotografías los 5 tratamientos con el grupo control el cual equivale a una concentración de 0ml/L debido a que no se le aplicó ningún agente químico extra, se exponen los siguientes cuadros, uno donde se indica las concentraciones del Plaguicida A seguido de su respectiva comparación visual, y luego las concentraciones del Plaguicida B y su comparación fotográfica:

Tabla 7. Cantidad de Plaguicida A por litro de solución, ensayo final.

<i>Plaguicida/Tratamiento</i>	PLAGUICIDA A (ml/L)
1	0,04
2	0,34
3	0,64
4	0,94
5	1,24

Fuente: Autor.

Ilustración 12. Plantas de lechuga por tratamiento, Plaguicida A



Fuente: Autor.

La imagen anterior muestra como el Plaguicida A impide el desarrollo normal de las plántulas de lechuga, sin embargo, hay plántulas que no se ven afectadas notablemente por el plaguicida ya que en apariencia asemejan a las del grupo testigo en tamaño.

Tabla 8. Cantidad de Plaguicida B por litro de solución, ensayo final.

<i>Plaguicida/Tratamiento</i>	PLAGUICIDA B (ml/L)
A	0,08
B	0,91
C	1,74
D	2,57
E	3,4

Fuente: Autor.

Ilustración 13. Plantas de lechuga por tratamiento, Plaguicida B.



Fuente: Autor.

El Plaguicida B no presenta diferencias notables durante la observación de las plántulas, ya que su tamaño y color se asemejan al del grupo testigo. Sin embargo, la mayoría de las plántulas son de menor tamaño que las del grupo control. Siguiendo con la metodología expuesta al comienzo, al realizar el pesaje de cada una de las plantas por tratamiento, se encontró que varias plantas hacían falta a pesar de que al ser introducidas al horno, todas las plántulas estaban presentes,

esto debido a que pudieron perderse durante el transporte de un laboratorio a otro, otra posibilidad es que debido a que unas plantas eran de un tamaño muy pequeño; al secarse pudieron no ser visibles al momento de extraer las plantas del horno generando su pérdida.

Consecutivamente se observa una tabla en donde se exponen los valores por tratamiento de aquellos individuos que presentaron o no un cambio durante los 28 días de observación, recordando que se trabajó con la misma cantidad de tratamientos para el Plaguicida A y Plaguicida B; y que las concentraciones varían entre si según el pre-ensayo, es decir, el tratamiento 1 del Plaguicida A es una concentración diferente al tratamiento A del Plaguicida B a pesar de que ambas representan la mínima cantidad de plaguicida utilizado. Esto debido a que, en el pre-ensayo, las plántulas de lechuga fueron más sensible a concentraciones altas del plaguicida A. Los tratamientos con valor de 0 corresponden a un mismo grupo control, al cual no se le aplico ningún plaguicida.

Tabla 9. Individuos afectados por plaguicida, ensayo

PLAGUICIDA	PLAGUICIDA A					
Tratamiento (ml/L)	0,04	0,34	0,64	0,94	1,24	0
Muertes	1	0	0	1	0	1
Cambio en el color	6	6	5	5	9	2
Sin cambio	5	6	7	6	3	9
PLAGUICIDA	PLAGUICIDA B					
Tratamiento (ml/L)	0,08	0,91	1,74	2,57	3,4	0
Muertes	0	2	1	3	0	1
Cambio en el color	6	7	8	8	9	2
Sin cambio	6	3	3	1	3	9

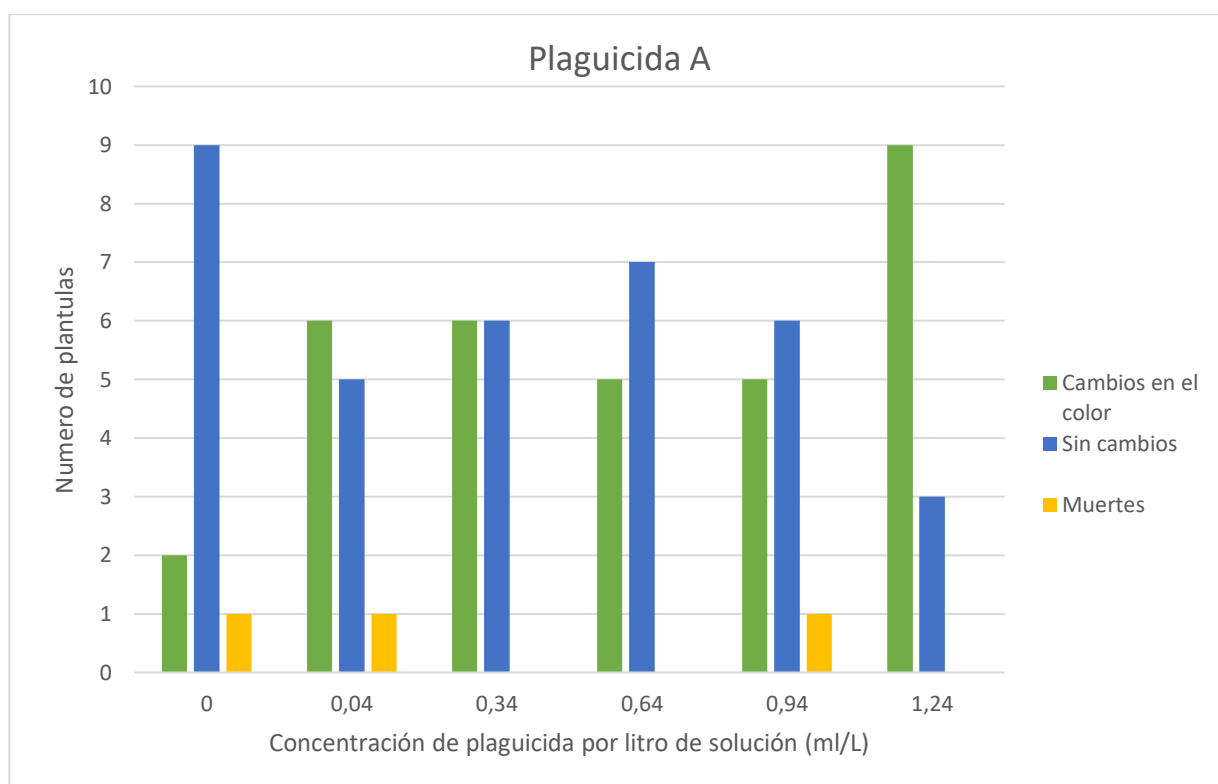
Fuente: Autor.

4.3.1. Plaguicida A

Inicialmente, se destaca de forma más clara la cantidad de plántulas afectadas en su color, supervivencia o sin efecto observable correspondiente a cada concentración por plaguicida. El grafico se compone del eje Y el cual corresponde

al número de plántulas y el eje X identifica la concentración por litro de solución a la que fue sometida el individuo. Las columnas que representan al grupo control o testigo son aquellas que poseen valor de 0 en el eje X ya que no se le aplicó ningún plaguicida, el mismo grupo control se usó para comparar los resultados del Plaguicida A y B.

Grafico 2. Resultados basados en la observación de las plántulas, Plaguicida A.



Fuente: Autor.

El cambio observable en las plántulas de lechuga fue el cambio de color en sus hojas, éstas podían presentar color amarillo en la punta de algunas hojas o marchites total de una de sus hojas, este cambio se puede deber a la interacción con el producto químico y agentes que aceleran el proceso de absorción, transporte o eliminación del producto, tal es el caso de la temperatura, otra posible explicación es el exceso de agua, sin embargo todas las plantas estuvieron expuestas a la misma cantidad de agua a la misma hora y por un periodo equivalente a un minuto. El siguiente cambio observable fue la muerte del individuo durante los 28 días después de la exposición al xenobiótico. El grupo control presentó una muerte de 12 individuos, rango que se repite en el tratamiento con menor concentración

(Tratamiento 1: 0,04ml/L) y el en tratamiento 4 (0,94 ml/L), el resto de los tratamientos no presentaron muertes. Adicionalmente se evidencia un comportamiento creciente de individuos sin cambios del tratamiento con menor concentración hasta el tratamiento 3, después comienza a decrecer. También se evidencia que, a pesar de aplicar una dosis mínima a las plántulas, estas presentan cambios en su fisonomía.

Conjuntamente, se realizó la comparación con base en la estadística utilizada por cada variable respuesta dependiendo del plaguicida utilizado. Utilizando el software SPSS se analizaron los datos obtenidos. El primer paso por seguir fue organizar los datos en valores que el programa pudiera reconocer y analizar según el método escogido anteriormente en la metodología. Para cada ensayo de plaguicida se harán los análisis por separado. El primer método de análisis es el análisis ANOVA, prueba la hipótesis de que algunas de las medias de dos o más poblaciones no son iguales mediante una diferencia estadísticamente significativa, para esto se utilizan dos hipótesis, la hipótesis nula y la hipótesis alternativa; tal como se muestra a continuación:

H_0 = Hipotesis nula, todas las medias de los grupos son iguales

H_a = Hipotesis Alternativa, al menos una de las medias de los grupos es diferente

Los datos ingresados en el software fue el tratamiento o concentración equivalente en mililitros por litro de solución y el promedio de las variables respuesta por replica en cada tratamiento, recordando que las variables respuesta son: la diferencia de la altura del brote entre el día 1 y el día 28 de observación, la longitud de la raíz al día 28, el peso seco y el peso fresco al finalizar el periodo de prueba.

A continuación, se muestra la prueba de homogeneidad de varianzas la cual calcula el estadístico de Levene para contrastar la igualdad de las varianzas de grupo con un alfa de 0,07; es decir, con un nivel de confianza de 93%. Se trabajó con este nivel de confianza debido a que la variabilidad biológica, es una característica que es afectada por varios factores como los componentes ambientales o la respuesta individual al xenobiótico, dicha variabilidad se ve mayormente alterando al realizar un análisis interindividual. Esta prueba no depende del supuesto de normalidad. La Tabla 10. Prueba de homogeneidad de varianzas Plaguicida A, da a conocer el contraste de las varianzas y así saber si son o no semejantes entre grupos. Para esto también tendremos dos alternativas que se representaran de la siguiente manera:

H_0 = Hipotesis nula, las varianzas de los grupos son iguales

H_a = Hipotesis Alternativa, las varianzas de los grupos no son semejantes

Tabla 10. Prueba de homogeneidad de varianzas Plaguicida A

	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
DiferenciaAltura	2,002	5	18	,127
LongitudRaiz	,962	5	18	,467
PesoFresco	4,491	5	18	,008
PesoSeco	7,522	5	18	,001

Fuente: Análisis ANOVA, Software SPSS.

Ya que el valor de significancia es menor de 0,07 para solo dos de las variables dependientes (Peso seco y peso fresco); quiere decir que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa; concluyendo que las varianzas de estas variables entre los grupos no son semejantes, sin embargo, para la longitud de la raíz y la altura del brote es el caso contrario; se acepta la hipótesis nula, es decir que la varianza entre poblaciones tiene semejanza.

Seguido se encuentra el análisis ANOVA, el cual compara las medias por cada variable de respuesta ingresada.

Tabla 11. Análisis ANOVA, Plaguicida A

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
DiferenciaAltura	Entre grupos	3,456	5	,691	2,297	,088
	Dentro de grupos	5,415	18	,301		
	Total	8,871	23			
LongitudRaiz	Entre grupos	38,729	5	7,746	2,588	,062
	Dentro de grupos	53,881	18	2,993		
	Total	92,610	23			
PesoFresco	Entre grupos	13,233	5	2,647	2,597	,062
	Dentro de grupos	18,343	18	1,019		
	Total	31,576	23			
PesoSeco	Entre grupos	,340	5	,068	4,636	,007

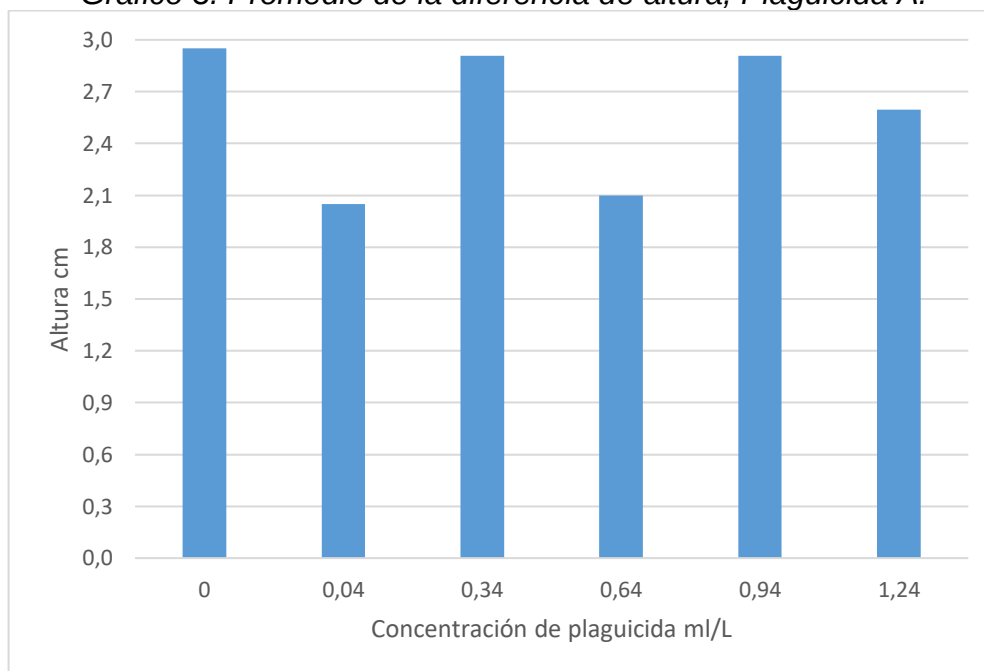
Dentro de grupos	,264	18	,015		
Total	,603	23			

Fuente: Análisis ANOVA, Software SPSS.

El análisis de la Tabla 11. Análisis ANOVA, Plaguicida A, se encuentra el caso donde las variables diferencia entre altura tiene un valor de significancia mayor a 0,07, lo cual indica que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la alternativa. Mientras que, para las variables restantes longitud de raíz, el peso fresco y peso seco tienen un valor menor a 0,07 (0,062, 0,062 y 0,07 respectivamente); por consiguiente, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, las medias entre grupos son diferentes.

Posterior al análisis ANOVA, se evidencia de forma gráfica cada una de las variables respuesta analizadas por plaguicida; con el objetivo de identificar visualmente si hay o no una diferencia notoria entre tratamientos, los gráficos de barras se realizaron con los promedios de las variables por tratamiento, es decir que hay 6 tratamientos incluyendo el grupo control representados en el eje de las abscisas (eje x) según la dosis de plaguicida por litro utilizada, y en el eje de las ordenadas (eje y) los valores promedios de cada variable respuesta, altura de la plántula, longitud de la raíz, peso fresco y peso seco.

Gráfico 3. Promedio de la diferencia de altura, Plaguicida A.



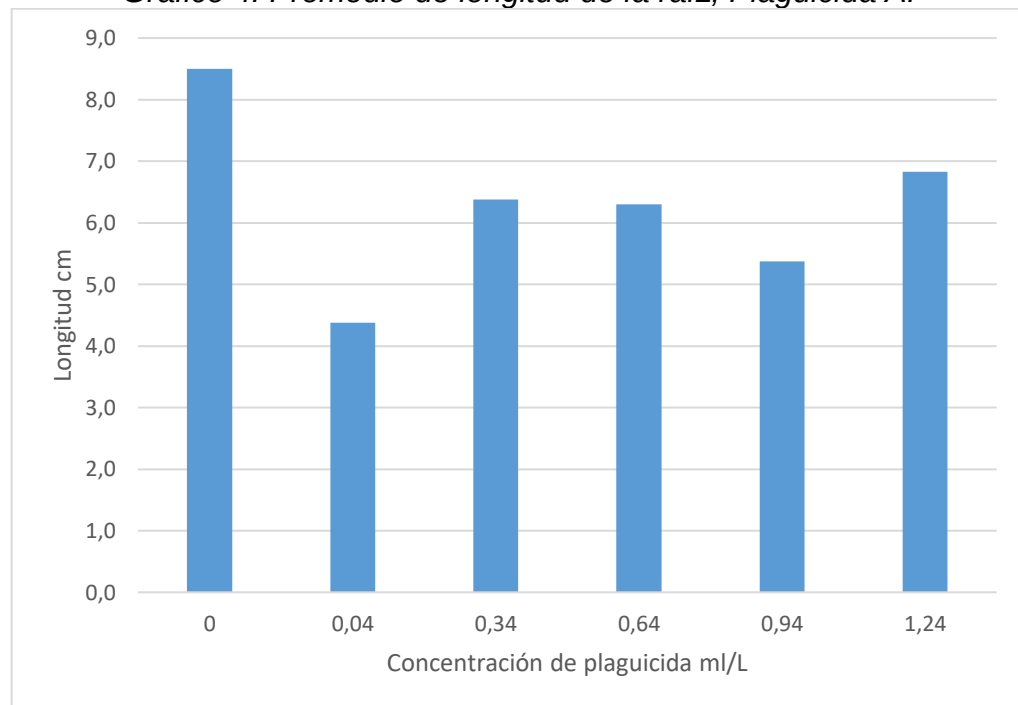
Fuente: Autor.

En la Grafico 3. Promedio de la diferencia de altura, Plaguicida A., se observa en centímetros, cuanto creció la plántula desde que se le aplicó el plaguicida hasta el día 28 que se finalizó el bioensayo. Todas las plantas sometidas al producto químico agrícola crecieron menos que el grupo control o testigo, el cual casi alcanza a los 3 centímetros durante 28 días. No se evidencia un patrón de crecimiento obvio relacionado con la concentración aplicada, ya que el tratamiento con menor dosis (0,04 ml/L) creció casi 2,3 cm en 28 días, semejante al tratamiento tres (0,64 ml/L), mientras que los tratamientos dos, cuatro y cinco (0,34 ml/L, 0,94 ml/L y 1,24 ml/L respectivamente) crecieron más de 2,4 centímetros durante los días de observación. Esto es acorde al análisis ANOVA ya que estadísticamente no mostraba una diferencia significativa entre tratamientos para esta variable, pues su valor de significancia fue mayor al alfa ($>0,07$), sus medias son semejantes. Esto se puede deber a la combinación de factores como la temperatura que acelera o retarda el proceso de asimilación entre la planta y el químico, además hay que tener en cuenta que cada ser vivo así pertenezcan a la misma especie, pueden variar en su comportamiento.

En el Grafico 4. Promedio de longitud de la raíz, Plaguicida A., hay un comportamiento creciente respecto a la longitud de la raíz en centímetros, donde a menor dosis administrada menor es el tamaño de la raíz, luego llega a un punto donde a una dosis alta, presenta una longitud mayor, lo cual es el caso del tratamiento 2 (concentración de 0,34 ml/L), el tratamiento tres y cuatro disminuye la longitud. Sin embargo, el tratamiento cinco, muestra un comportamiento de elongación mayor a la mostrada a los tratamientos anteriores. No obstante, ninguno de los tratamientos presenta un comportamiento cercano al del grupo testigo, lo que demuestra como un producto agrícola con fines de protección puede afectar los factores de crecimiento de la planta como lo son la longitud de la raíz, limitando a la planta a un área más pequeña para poder absorber los nutrientes necesarios o el agua del suelo además de que la planta tendrá un soporte débil sobre el suelo.

Así mismo, al comparar estos resultados con nivel de significancia correspondiente, es acorde con los resultados estadísticos mediante la prueba de varianza de medias, ya que el alfa correspondiente a esta variable fue de 0,062, menor al alfa estipulado, lo que demuestra una diferencia significativa estadísticamente y que gráficamente se observa como todas las demás plantas tienen una longitud de raíz menor a 7 cm, una diferencia de más de un centímetro y medio comparadas al grupo control.

Grafico 4. Promedio de longitud de la raíz, Plaguicida A.

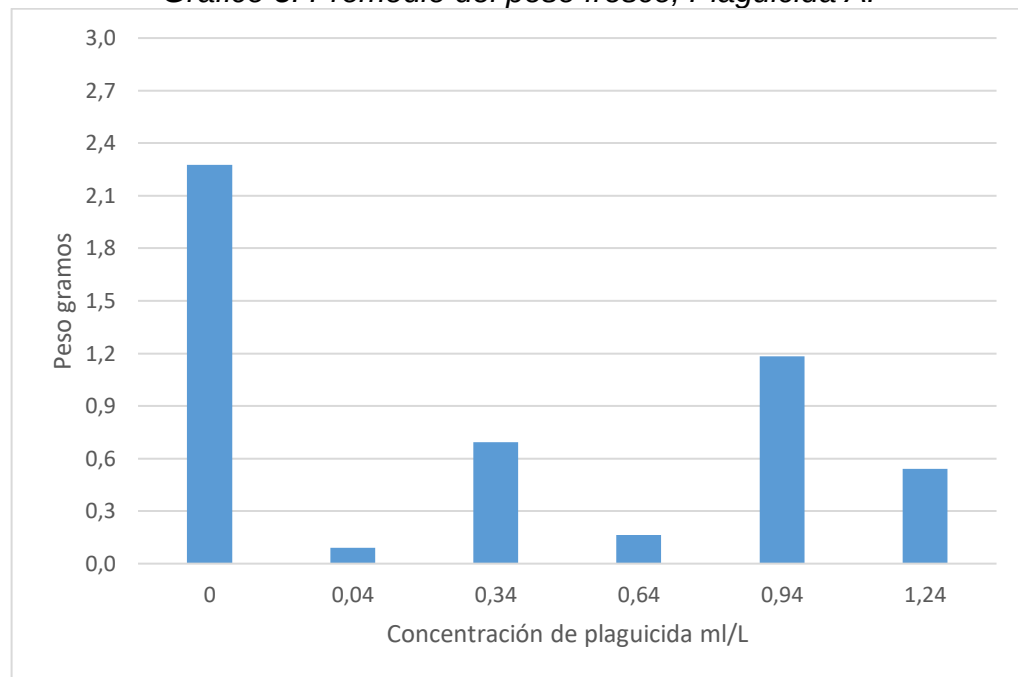


Fuente: Autor.

En el Grafico 5. Promedio del peso fresco, Plaguicida A., sabiendo que la composición de la lechuga es más del 92% agua, se evidencia un comportamiento aleatorio en el contenido de agua en las plántulas por cada tratamiento según el peso expresado en gramos, el grupo testigo tuvo un valor cercano a 2,4 gramos mientras que los demás tratamientos estuvieron por debajo de 1,2 gramos, recalcando que las plantas tuvieron el mismo sistema de riego a la misma hora y de la misma fuente.

Los tratamientos con menor peso son el tratamiento uno y tres que se expusieron a una concentración de 0,04 y 0,64 ml/L de plaguicida. Los tratamientos dos, cuatro y cinco tuvieron un peso superior a los 0,5 gramos. Aunque no hay un patrón definido, se puede decir que el químico afecta la composición de la lechuga, ya que ningún tratamiento estuvo cerca de pesar más de 2 gramos en promedio. A diferencia de las gráficas anteriores, esta muestra un desnivel entre grupos más notorio con el grupo control, ya que todos los tratamientos tuvieron un peso promedio por debajo de la mitad del peso control, acorde con lo visto en el análisis ANOVA donde se indica que si hay diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 93%.

Grafico 5. Promedio del peso fresco, Plaguicida A.



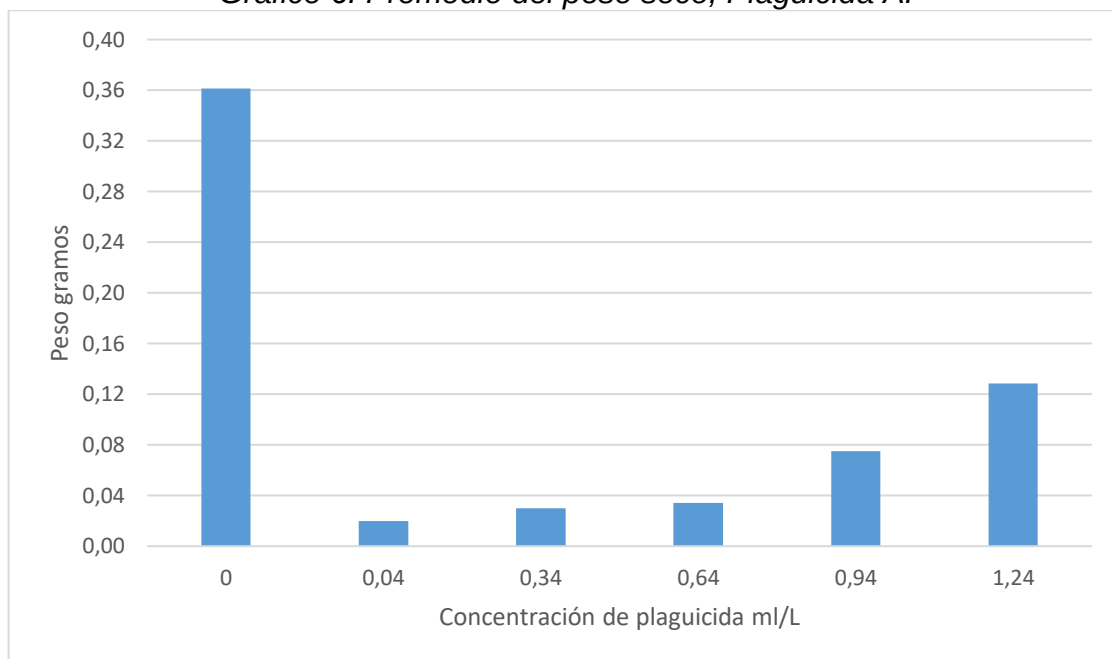
Fuente: Autor.

Recordando que a las plántulas de lechuga fueron sometidas a un calor constante de 50°C por un periodo de casi 24 horas, se presenta el siguiente gráfico denominado, Grafico 6. Promedio del peso seco, Plaguicida A., se observa una curva creciente, desde la dosis más baja suministrada hasta la más alta, excluyendo el grupo control. Se evidencia que, aquellos tratamientos con mayor cantidad de agua siguen teniendo un mayor peso seco, debido a que no se secaron en su totalidad, ejemplo claro de ello fue el grupo control el cual disminuyó 2 gramos con respecto a su peso fresco, y al hallar el porcentaje de humedad dio un total de 33,17%, sin embargo, así como se evidencia en las imágenes (Ilustración 14. Plántulas después del proceso de secado, Plaguicida A.), las plántulas del grupo control no están completamente secas debido a su gran tamaño, así su porcentaje de agua total ha de ser mayor que el hallado. Los últimos dos tratamientos, que aunque están muy por debajo del grupo control, son los que presentan mayor valor de peso seco, por consiguiente se puede deducir que a un aumento de concentración de plaguicida, la planta tiende a retener mayor cantidad de agua en su sistema. Los tratamientos con menor concentración de plaguicida en el tratamiento dado se secaron completamente, quedando la planta a un tamaño bastante reducido, frágil y seca, lo que deduce que su contenido era menor que se pudo evaporar en menos de un día a una temperatura de 50°C. Por ejemplo, los tratamientos que presentan plántulas secas en su gran mayoría son los tratamientos

1 y 2, correspondientes a un valor de humedad hallada de 64,19% y 80,62% respectivamente. Estos valores fueron hallados con el promedio aritmético por tratamiento.

Gracias al análisis ANOVA se estableció un alfa de 0,07, demostrando que si hay diferencia significativa más que todo con el grupo control (como se resalta en la gráfica descriptiva), pero también indica una diferencia estadística relevante entre tratamientos.

Grafico 6. Promedio del peso seco, Plaguicida A.



Fuente: Autor.

Ilustración 14. Plántulas después del proceso de secado, Plaguicida A.



Fuente: Autor.

Una vez aclarado de forma gráfica y estadística con los esquemas de barras y la prueba ANOVA respectivamente, revelan que si hay diferencias significativas entre la mayoría de los grupos, hay razón para realizar las pruebas post-hoc e identificar las parejas de tratamientos que difieren entre si. Se procederá a ejecutar la prueba post-hoc DMS para identificar cuál de las medias entre grupos es la que difiere. El método de la Diferencia Mínima Significativa utiliza pruebas t para realizar todas las comparaciones por pares entre las medias de los grupos. La tasa de error no se corrige para realizar múltiples comparaciones [14].

En el Anexo 4. Análisis estadístico DMS, Plaguicida A, se evidencia que pareja de grupos o parejas de tratamientos, presentan una diferencia de media significativa a un nivel de confianza de 93% por cada variable de respuesta ingresada, esto se sabe cuándo el nivel de significancia es menor a 0,07. Recordando que el tratamiento 6 corresponde al grupo control y el tratamiento 1 representa la menor concentración de plaguicida y el tratamiento 5 la mayor concentración de plaguicida.

✓ Diferencia de altura:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 2, 4 y 6
- Tratamiento 2 con: Tratamiento 1 y 3

- Tratamiento 3 con: Tratamiento 2, 4 y 6
- Tratamiento 4 con: Tratamiento 1 y 3
- Tratamiento 5 con ninguno
- Tratamiento 6 con: tratamiento 1 y 3

✓ Longitud de raíz:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 5 y 6
- Tratamiento 2 con ninguno
- Tratamiento 3 con ninguno
- Tratamiento 4 con Tratamiento 6
- Tratamiento 5 con: Tratamiento 1
- Tratamiento 6 con: tratamiento 1 y 4

✓ Peso fresco:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 2 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 3 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 4 con ninguno
- Tratamiento 5 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 6 con: Tratamiento 1,2, 3 y 5

✓ Peso seco:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 2 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 3 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 4 con Tratamiento 6
- Tratamiento 5 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 6 con: Tratamiento 1, 2, 3, 4, 5

Lo anterior nos indica que, la variable que más cambio sufrió durante la exposición al Plaguicida A corresponde al peso seco seguida de peso fresco, ya que en ambas variables las medias de los tratamientos uno al cinco tuvo una diferencia significativa con respecto al grupo control o testigo el cual no tuvo contacto alguno con plaguicidas y fue sometido a las mismas condiciones ambientales que el resto de la población.

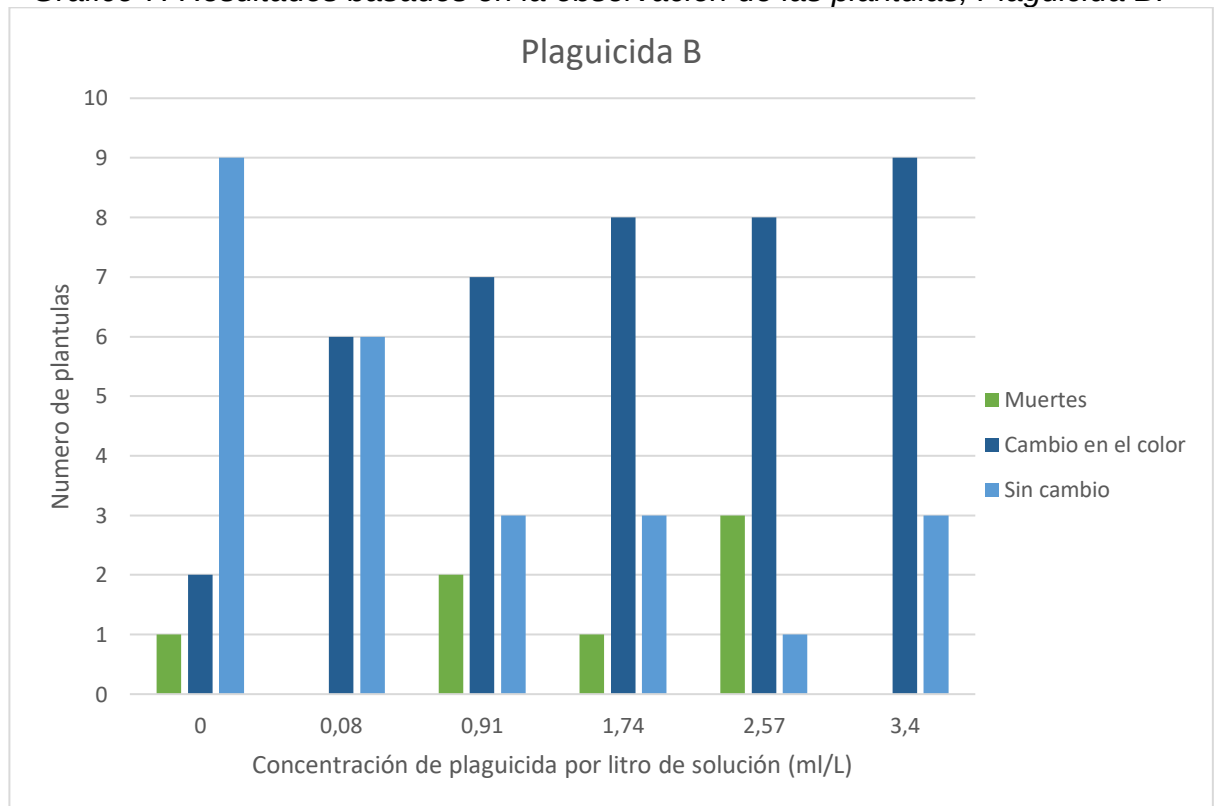
Adicionalmente, se observa que aquellas medias pertenecientes al tratamiento 1 (0,04 ml/L) y tratamiento 3 (0,64 ml/L) con respecto a la variable diferencia de altura,

tuvo una diferencia significativa con relación a la media del grupo testigo, mientras que para la variable longitud de raíz fueron los tratamientos 1 (0,04 ml/L) y 4 (0,94 ml/L) quienes tuvo una diferencia significativa de medias.

4.3.2. Plaguicida B

Igualmente, basados en la Tabla 9. Individuos afectados por plaguicida, ensayo se grafica mediante columnas las plántulas que fueron afectadas en su color, supervivencia o sin efecto observable correspondiente a cada concentración de Plaguicida B. Esta grafica esta compuesta por el eje Y el cual corresponde al número de plántulas y el eje X identifica la concentración por litro de solución a la que fue sometida el individuo. Las columnas correspondientes a la concentración 0, son el grupo control o testigo al cual no se le aplico ningún plaguicida.

Grafico 7. Resultados basados en la observación de las plántulas, Plaguicida B.



Fuente: Autor.

En la Grafico 7. Resultados basados en la observación de las plántulas, Plaguicida B. hay cambios en el color de las hojas de la plántula de forma creciente desde la menor concentración (0,08 ml/L) hasta su mayor concentración (3,4 ml/L), donde se vieron afectadas más de la mitad de las plántulas dada la interacción entre el ser vivo, el xenobiótico y las condiciones climáticas como la temperatura; otros factores como el viento o la lluvia no se tienen en cuenta debido a que las plántulas estaban protegidas por un invernadero cubierto evitando el paso del agua de lluvia.

Siguiendo el procedimiento previamente establecido en la metodología, se realiza el análisis estadístico para saber si hay o no diferencia significativa entre variables. Esto se hace con los análisis descriptivos (Gráficos de barras) y el análisis ANOVA, teniendo un nivel de confianza del 93%, lo cual equivale a un alfa de 0,07. Teniendo en cuenta nuevamente que utilizan dos hipótesis, la hipótesis nula y la hipótesis alternativa; tal como se muestra a continuación:

H_0 = Hipotesis nula, todas las medias de los grupos son iguales

H_a = Hipotesis Alternativa, al menos una de las medias de los grupos es diferente

Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas Plaguicida B.

	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
DiferenciaAltura	,864	5	18	,524
LongitudRaiz	,694	5	18	,634
PesoFresco	6,044	5	18	,002
PesoSeco	13,562	5	18	,000

Fuente: Análisis ANOVA, Software SPSS.

En la Tabla 12. Prueba de homogeneidad de varianzas Plaguicida B. se observa la prueba de homogeneidad de varianza, donde el valor de significancia es menor de 0,07 para el peso seco y el peso fresco; lo cual quiere decir que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, las varianzas de los grupos son diferentes. Sin embargo, para la longitud de la raíz y la altura del brote es el caso opuesto debido a que el valor de significancia es mayor a 0,07, es decir que tiene mayor probabilidad de que haya una similitud de las varianzas entre los grupos y las dos variables longitud de raíz y altura de brote.

En seguida, se muestra el análisis ANOVA, para identificar si sus medias son o no iguales. Para el caso del peso seco, el valor de significancia es de 0,07 seguido del peso fresco con un valor de 0,026; lo cual indica el rechazo de la hipótesis nula, aceptando así que al menos un par de sus medias son diferentes, sin embargo, desconocemos cuales son las que difieren. Para la diferencia de altura y la longitud de la raíz se acepta la hipótesis nula, sus medias son iguales.

Tabla 13. Análisis ANOVA, Plaguicida B

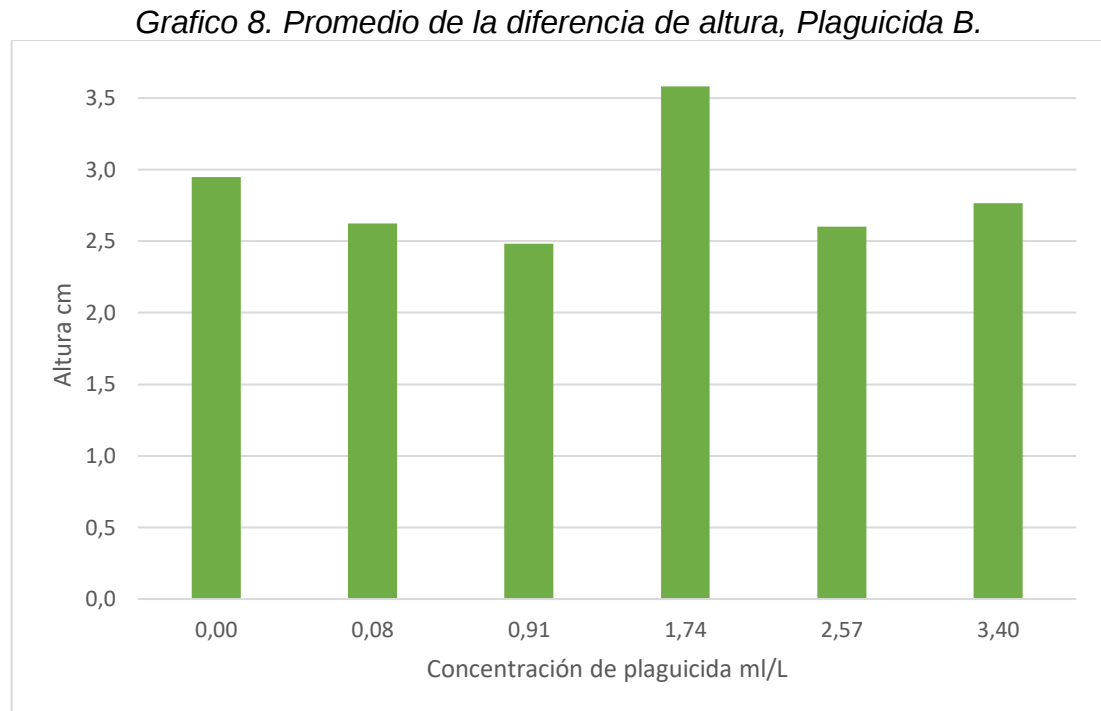
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
DiferenciaAltura	Entre grupos	3,204	5	,641	1,570	,219
	Dentro de grupos	7,346	18	,408		
	Total	10,550	23			
LongitudRaiz	Entre grupos	27,522	5	5,504	1,389	,275
	Dentro de grupos	71,335	18	3,963		
	Total	98,857	23			
PesoFresco	Entre grupos	12,091	5	2,418	3,333	,026
	Dentro de grupos	13,059	18	,725		
	Total	25,150	23			
PesoSeco	Entre grupos	,327	5	,065	4,563	,007
	Dentro de grupos	,258	18	,014		
	Total	,585	23			

Fuente: Análisis ANOVA, Software SPSS.

En seguida, se realizan los mismos análisis por variable evaluada para el plaguicida B. La primera gráfica (Grafico 8. Promedio de la diferencia de altura, Plaguicida B.), hace referencia a los centímetros que la planta creció en promedio durante los 28 días de observación desde la exposición al químico, a diferencia del anterior, (Grafico 3. Promedio de la diferencia de altura, Plaguicida A.), el resultado del bioensayo con el Plaguicida B tiene una respuesta positiva en las plantas de lechuga, ya que a cierta concentración (1,74 ml/L) estimula un mayor crecimiento, superando así el crecimiento natural evidenciado en el grupo control. Sin embargo, cuando se supera esa concentración, la respuesta de la planta al químico es negativa, ya que disminuye el crecimiento quedando por debajo del crecimiento del grupo testigo.

Gráficamente no se visualiza una diferencia significativa entre grupos, exceptuando el tratamiento tres con una concentración de 1,74 ml/L, puesto que la divergencia de crecimiento es de 0,5 centímetros entre tratamientos. Esto es acorde a los resultados del nivel de significancia para la variable diferencia de altura, ya que su

alfa fue muy superior a 0,07, demostrando que las medias entre tratamientos son iguales (hipótesis nula aceptada).



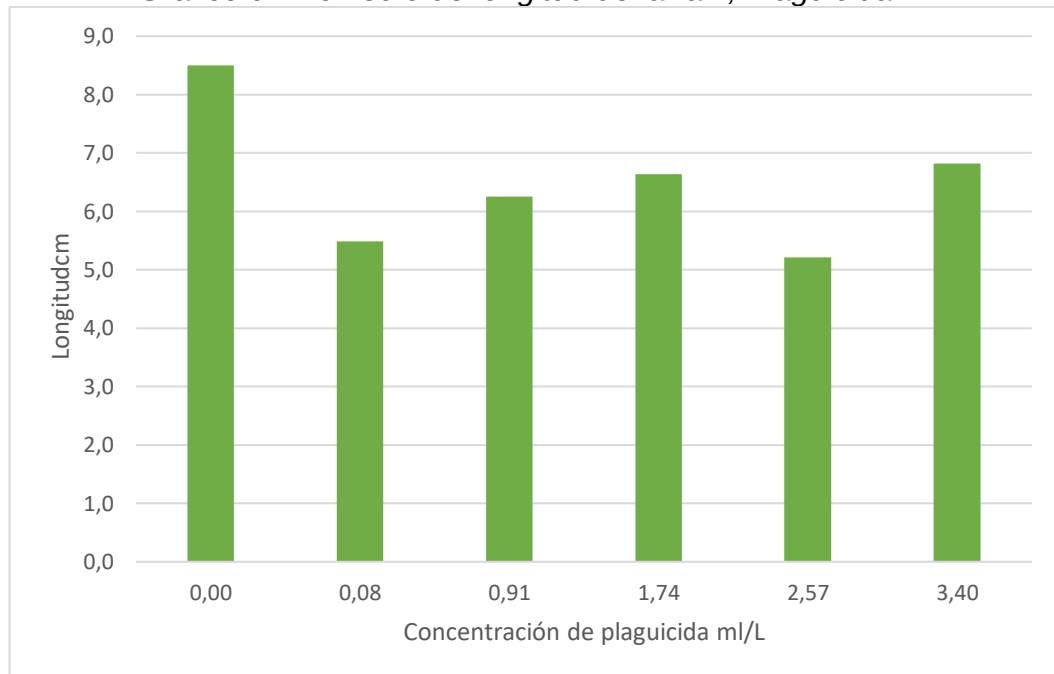
Fuente: Autor

Seguida se encuentra la Grafico 9. Promedio de longitud de la raíz, Plaguicida B., donde se deduce que el plaguicida estimula el crecimiento de la planta a mayor concentración del mismo, sin embargo, si se supera esa concentración, en este caso la concentración del tratamiento tres que corresponde a 1,74 ml/L, el crecimiento de la planta se ve afectado negativamente. Por otra parte, a pesar de tener una respuesta positiva, no supera o alcanza el crecimiento observado durante los 28 días del grupo control. El tratamiento 5, con una concentración mayor (3,4 ml/L), supera levemente el tratamiento 3, aunque esto también se puede deber a las condiciones solares que aportan a la fotosíntesis de las plantas, en su mayoría, las plantas del grupo 5 pudieron estar más expuestas a las horas del sol que el resto.

En esta ocasión, aunque estadísticamente dio un valor de significancia mayor al alfa, lo cual indica que sus medias no tienen una diferencia estadísticamente significativas, gráficamente se puede observar como hay una diferencia mayor a un centímetro entre los promedios de cada grupo, siendo una alteración importante, ya

que al ser comparadas con el grupo control, el tratamiento que mejor reacciono al plaguicida (concentración de 3,40 ml/L) tiene una diferencia mayor a un centímetro y medio; y aquel tratamiento con menor respuesta positiva (concentración de 2,57 ml/L) presenta una diferencia de más de 4 centímetros con el grupo control. Esto es importante debido a que las plantas se sustentan de sus raíces para absorber los nutrientes y mantenerse firmes en el suelo.

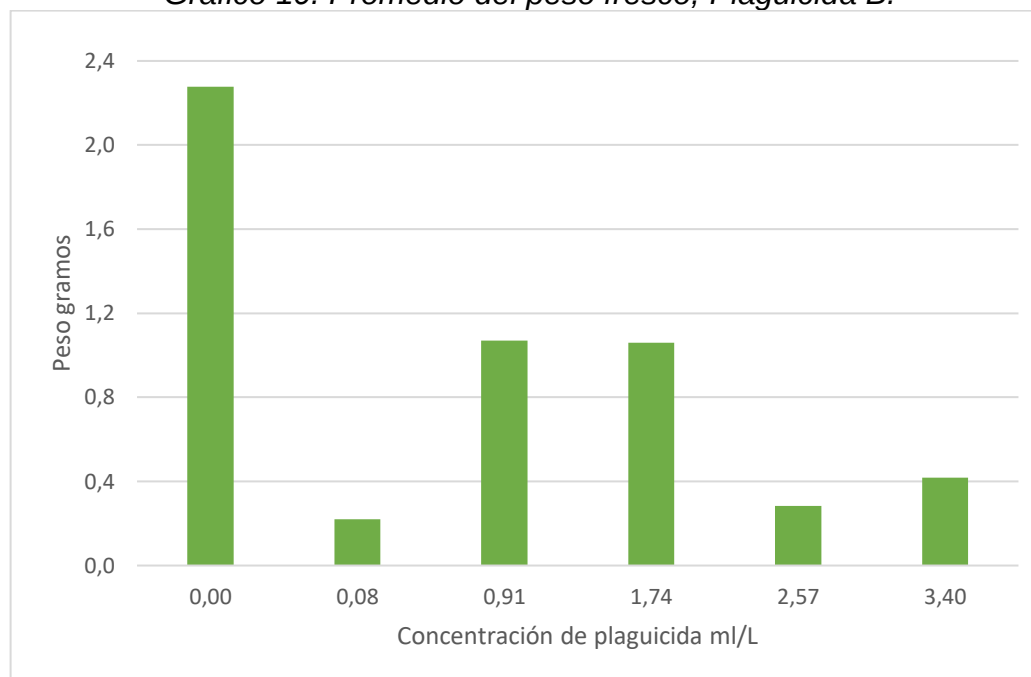
Grafico 9. Promedio de longitud de la raíz, Plaguicida B.



Fuente: Autor.

En los gráficos de peso fresco y peso seco, se puede distinguir un comportamiento semejante según cada concentración. En ambos casos las concentraciones que tuvieron mayor peso fresco y húmedo corresponden a los tratamientos dos y tres (concentraciones de 0,91 y 1,74 respectivamente), con un valor inferior a 1,2 gramos de peso fresco e inferior a 0,16 gramos en peso seco. El tratamiento uno, fue el que tuvo menor peso fresco junto con el tratamiento cuatro, pero en el peso seco el tratamiento cuatro tuvo menor peso que el tratamiento uno, lo cual indica, que el tratamiento cuatro tenía menor contenido de agua que el tratamiento uno provocando que las plántulas del tratamiento cuatro se secaran más al ser introducidas en el horno.

Grafico 10. Promedio del peso fresco, Plaguicida B.

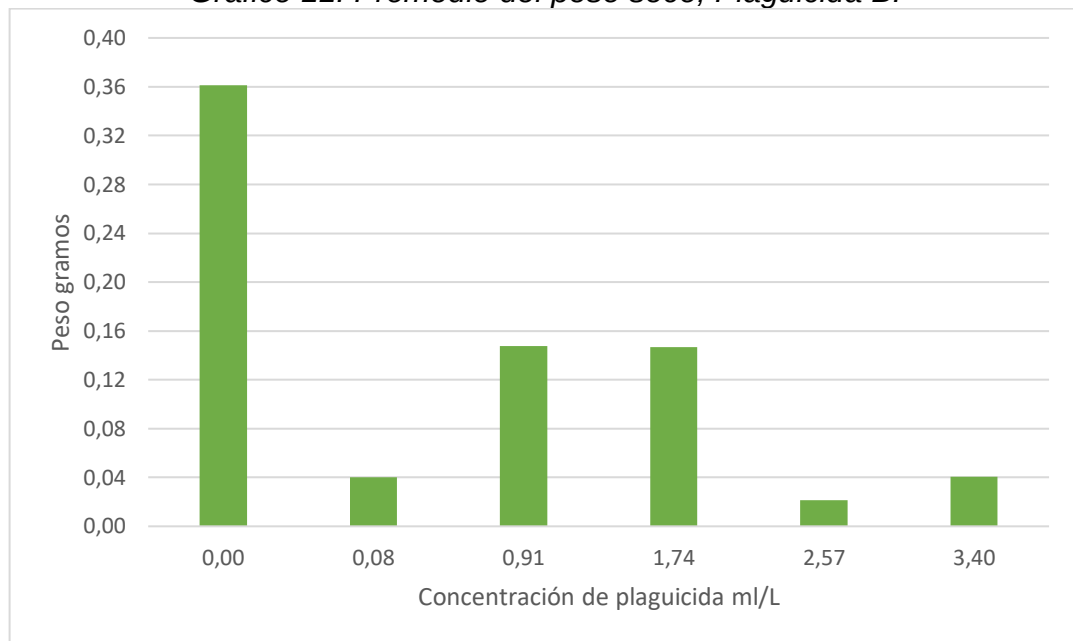


Fuente: Autor.

Para el caso del tratamiento cinco, con una concentración de 3,4 ml/L de plaguicida A, obtuvo un peso superior a los tratamientos uno y cuatro en el peso fresco, sin embargo, en el peso seco, el tratamiento cinco y cuatro obtuvieron un valor cercano entre ellos, lo cual indica que el porcentaje de agua contenida en las plantas de ambos tratamientos era semejante a pesar de que las plantas del tratamiento cinco poseían inicialmente un mayor tamaño.

Adicionalmente ambas variables presentan un nivel de significancia menor a 0,07, lo cual demuestra que si hay diferencia estadísticamente significativa entre sus medias, ya que incluso gráficamente, se observa como el grupo control se desarrolla de mejor manera con relación al contenido de agua que la plántula pueda poseer o también puede hacer referencia que el grupo control tiene un tamaño amplio de forma horizontal aumentando así su peso fresco a diferencia de las otras plántulas, que pueden ser igual de altas pero no igual de anchas. Mostrando así, que el peso es la variable más sensible ante el tóxico aplicado, aunque no es fácil de observar ya que se necesita de procedimientos físicos como el pesaje para identificar diferencias entre ellas.

Grafico 11. Promedio del peso seco, Plaguicida B.



Fuente: Autor.

Ya que al menos dos variables presentan aceptación de la hipótesis alternativa, se decide realizar los análisis post-hoc para identificar cuales medias son diferentes mediante el método DMS. En el Anexo 5. Análisis estadístico DMS, Plaguicida B, se señal que parejas de grupos o parejas de tratamientos, presentan una diferencia de media significativa a un nivel de confianza de 93% por cada variable de respuesta ingresada, esto se sabe cuándo el nivel de significancia es menor a 0,07. Recordando que el tratamiento 6 corresponde al grupo control y el tratamiento 1 representa la menor concentración de plaguicida y el tratamiento 5 la mayor concentración de plaguicida.

✓ Diferencia de altura:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 3
- Tratamiento 2 con: Tratamiento 3
- Tratamiento 3 con: Tratamiento 1, 2, y 4
- Tratamiento 4 con: Tratamiento 3
- Tratamiento 5 con ninguno
- Tratamiento 6 con ninguno

✓ Longitud de raíz:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 2 con ninguno
- Tratamiento 3 con ninguno
- Tratamiento 4 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 5 con ninguno
- Tratamiento 6 con: Tratamiento 1, y 4

✓ Peso fresco:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 2 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 3 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 4 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 5 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 6 con: Tratamiento 1, 2, 3, 4 y 5

✓ Peso seco:

- Tratamiento 1 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 2 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 3 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 4 con Tratamiento 6
- Tratamiento 5 con: Tratamiento 6
- Tratamiento 6 con: Tratamiento 1, 2, 3, 4 y 5

Lo anterior demuestra que todas las medias pertenecientes a las variables peso fresco y peso seco presentan una diferencia significativa con respecto al grupo control; lo cual es evidencia de como las plántulas fueron afectadas al ser expuestas al Plaguicida B generando alteraciones durante el crecimiento de las lechugas. Para el caso de la variable longitud de raíz, las medias que mostraron diferencia significativa fueron las pertenecientes al tratamiento 1 (0,08 ml/L) y 4 (2,57 ml/L) con respecto al grupo control. Sin embargo, ninguna concentración del Plaguicida B afectó la longitud superficial de la plántula con respecto a la comparación de medias con el grupo control.

4.4. Curva dosis respuesta: bioensayo final

4.4.1. Plaguicida A

Como punto final, se encuentran las concentraciones efectivas 50 correspondiente a cada una de las variables respuesta evaluadas durante los 28 días del desarrollo del experimento. Los valores promedio del grupo control por el 50% fue el valor de referencia para identificar si hay o no anomalía de crecimiento, para la diferencia de altura fue de 1,475 cm, para la longitud de raíz fue de 4,25 cm, para el peso fresco y el peso seco fue de 1,1384 g y 0,1806 g respectivamente.

A continuación, se presentan los valores de concentración efectiva 50 para cada variable, resultado del análisis con el software ProStat:

Tabla 14. Concentración Efectiva 50 Plaguicida A.

Variables	CE₅₀ (ml/L)
Diferencia de Altura	0,0350
Longitud de Raíz	0,0554
Peso Fresco	0,0002
Peso Seco	3,8961

Fuente: Autor.

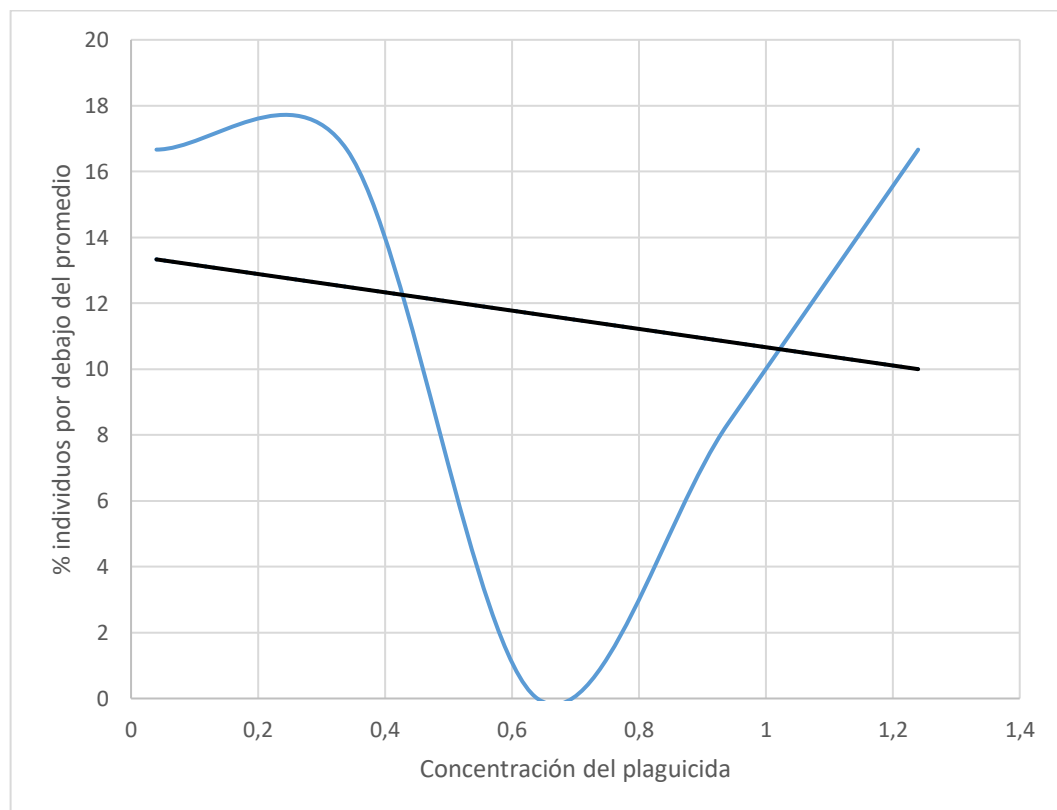
En la Tabla 14. Concentración Efectiva 50 Plaguicida A., se evidencia que para cada variable, el valor de concentración de plaguicida en un litro solución donde el 50% de la población muestra alteración varia, dando a conocer que la variable más sensible al tóxico es el peso fresco de la plántula ya que necesita menos cantidad de tóxico para que haya una alteración en ella, es decir, que se puede ver alterada la cantidad de humedad presente en la planta lechuga 'Batavia'. La siguiente variable más afectada por el Plaguicida A fue la diferencia de altura, lo cual indica, que los centímetros que la planta crece por día se ven disminuidos por el uso del insecticida, la concentración efectiva 50 para esta variable fue de 0,035 ml/L.

Adicionalmente, se encuentra a continuación las gráficas Dosis respuesta respectivas a cada una de las variables respuesta con una línea de tendencia, estas graficas están compuestas por el porcentaje de plantas afectadas por el plaguicida,

las cuales fueron aquellas que se encontraban por debajo del 50% del promedio del grupo control.

En el Grafico 12. Dosis-respuesta, variable Diferencia de altura. Plaguicida A. se observa como concentraciones bajas del plaguicida afectan a un porcentaje cercano al 18% de individuos afectados en la cantidad de centímetros que pueden llegar a crecer por día, sin embargo, a una concentración mayor a 0,6 ml/l e inferior a 0,9 ml/L la planta no se ve afectada en su longitud, pero una vez se supera dicha concentración, el porcentaje de individuos perjudicados también aumenta.

Grafico 12. Dosis-respuesta, variable Diferencia de altura. Plaguicida A.

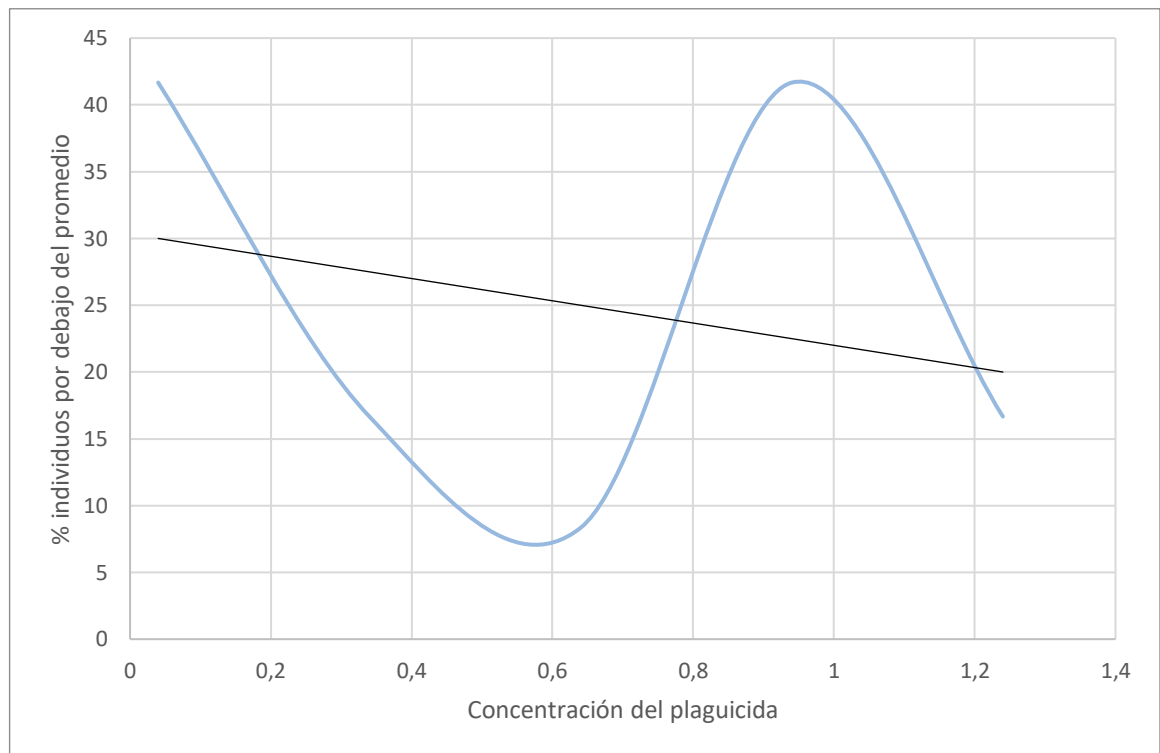


Fuente: Autor.

Seguido se encuentra el grafico correspondiente a la variable longitud de raíz, los individuos afectados son cercanos al 45%, incluso si se manejan concentraciones bajas de plaguicida o cercanas a 1 ml/L, sin embargo, concentraciones entre 0,2 ml/L y 0,65 ml/L hay una disminución de individuos afectados, mismo comportamiento que ocurre a una concentración mayor de 1,2 ml/L del plaguicida.

Ambas variables, diferencia de altura y longitud de raíz, presentan comportamientos variables dependiendo de la concentración del plaguicida. Aunque la variable longitud de raíz es más sensible que la diferencia de altura, esto se deduce ya que el porcentaje mínimo de individuos de la primera variable es semejante al porcentaje máximo de individuos en la segunda variable analizada.

Grafico 13. Dosis-respuesta, variable Longitud de raíz. Plaguicida A.

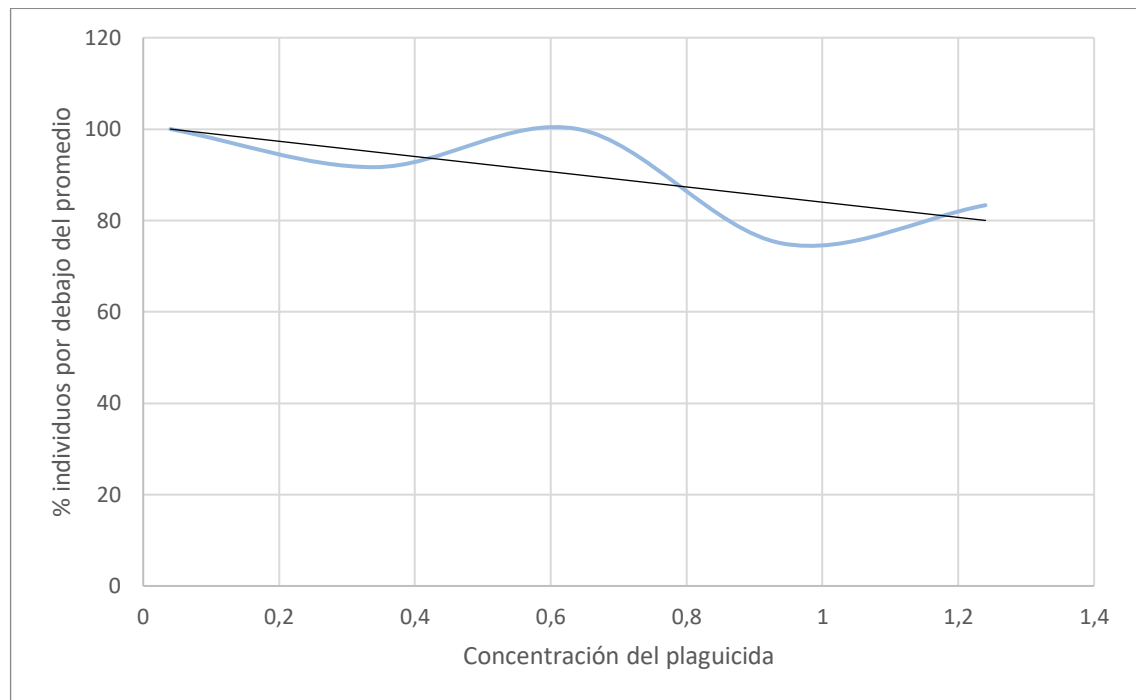


Fuente: Autor.

Para la variable peso fresco, la conducta entre las medias de los grupos es estadísticamente significativo, además, el cambio de porcentaje de individuos afectados entre concentración varía de forma descendente y lenta a medida que aumenta la cantidad de producto utilizado en la solución, además esta sigue siendo una de las variables más sensibles al plaguicida utilizado, puesto que la menor cantidad de individuos afectados corresponde a un 75% de la población tratada en el tratamiento. No obstante, el comportamiento de porcentaje de individuos afectados es descendente conforme aumenta la concentración del plaguicida, esto se puede deber a que el plaguicida presenta sustancia que aceleran y fortalecen el crecimiento de la plántula haciendo que se asemejen al comportamiento normal o

que incluso supere dichos valores haciendo una planta más grande respecto al peso.

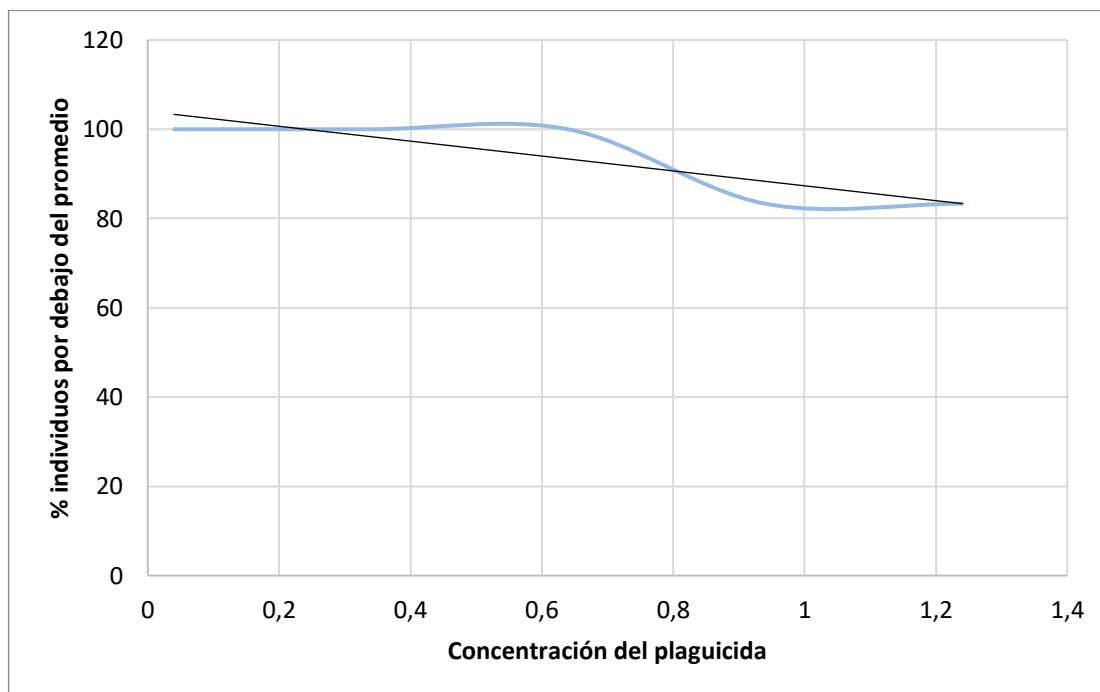
Grafico 14. Dosis-respuesta, variable Peso fresco. Plaguicida A.



Fuente: Autor.

Lo mismo ocurre con el comportamiento de los individuos respecto al peso seco, varios individuos poseen valores semejantes a los normales a medida que se aumenta la concentración del plaguicida, por consiguiente, ya que estas medidas se tomaron a finalizar el periodo de observación, y la absorción del insecticida es de acción sistémica, además de que el periodo de una segunda exposición según las recomendaciones del envase es de aproximadamente 30 días, existe la posibilidad de que el xenobiótico quede en la planta hasta mucho después de su aplicación aún bajo condiciones de riego constante, para que así la planta crezca de forma aparente más grande pero no mejor, de pasar del peso fresco al seco y que tengan valores similares, puede indicar que el porcentaje de humedad, características más importante de la lechuga, se vea gravemente afectada, haciendo que el peso inicial de la planta sea influenciado por una gran longitud de sus hojas o raíces pero no de su humedad.

Grafico 15. Dosis-respuesta, variable Peso Seco. Plaguicida A.



Fuente: Autor.

4.4.2. Plaguicida B

Para finalizar, se encuentran las CE_{50} correspondiente a cada una de las variables respuesta, utilizando los mismos valores promedios del grupo control como valor de referencia para el comportamiento normal y la conversión a log en base 10 de la concentración. A continuación, se presentan los valores de concentración efectiva 50 para cada variable, resultado del análisis con el software ProStat:

Tabla 15. Concentración Efectiva 50 Plaguicida B.

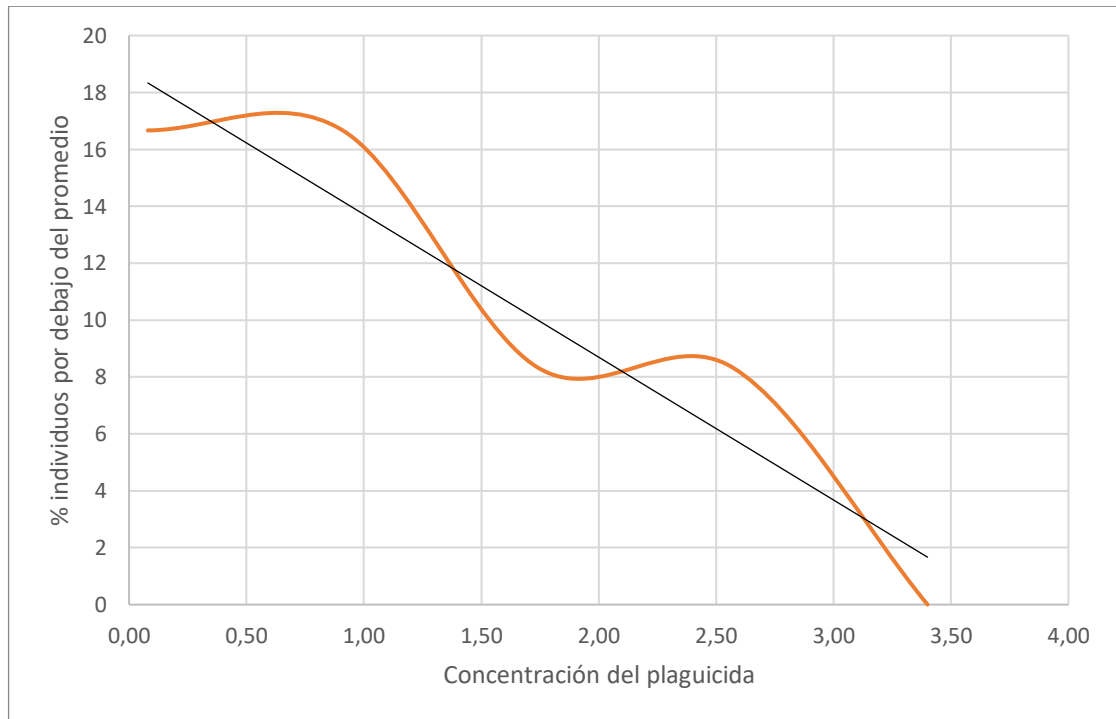
Variables	CE_{50} (ml/L)
Diferencia de Altura	0,52153620
Longitud de Raíz	0
Peso Fresco	0,093118480000
Peso Seco	0,00142243

Fuente: Autor.

Se observa que la longitud de raíz no es afectada por el Plaguicida B ya que su concentración efectiva dio un valor nulo, sin embargo, el resto de los valores presentan concentraciones menores a 0,6 ml/L de plaguicida para que el al menos la mitad de la población de sea afectada por su uso. Además, el peso seco y el peso fresco con valores de 0,0014 ml/L y 0,93 ml/L respectivamente, poseen los valores más bajos de CE_{50} , demostrando que son las características más sensibles ante la composición del Plaguicida B.

A continuación, se presentan las gráficas dosis respuesta de cada una de las variables analizadas, los gráficos se realizaron según los valores promedios obtenidos con el grupo control o testigo para así determinar el porcentaje de individuos afectados.

Grafico 16. Dosis-respuesta, variable Diferencia de altura. Plaguicida B.

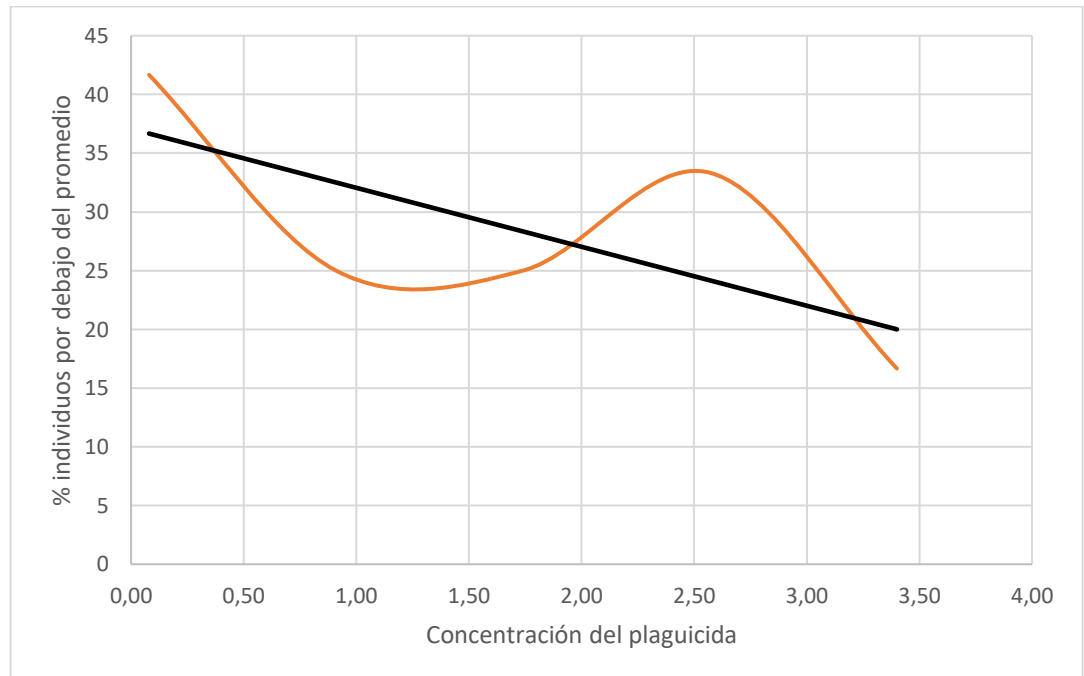


Fuente: Autor.

El Grafico 16. Dosis-respuesta, variable Diferencia de altura. Plaguicida B. muestra una disminución de los individuos afectados por el plaguicida conforme se aumenta la concentración del mismo, esto se puede deber a que la asimilación del tóxico por la planta es más rápida al aumentar la cantidad a la que se expone, provocando una

respuesta positiva en el individuo haciendo que crezca a la misma velocidad de las plantas no tratadas. Esto es común en sustancia que pueden generar efectos tóxicos y favorables, dependiendo de la concentración, estas sustancias se conocen como hormetinas.

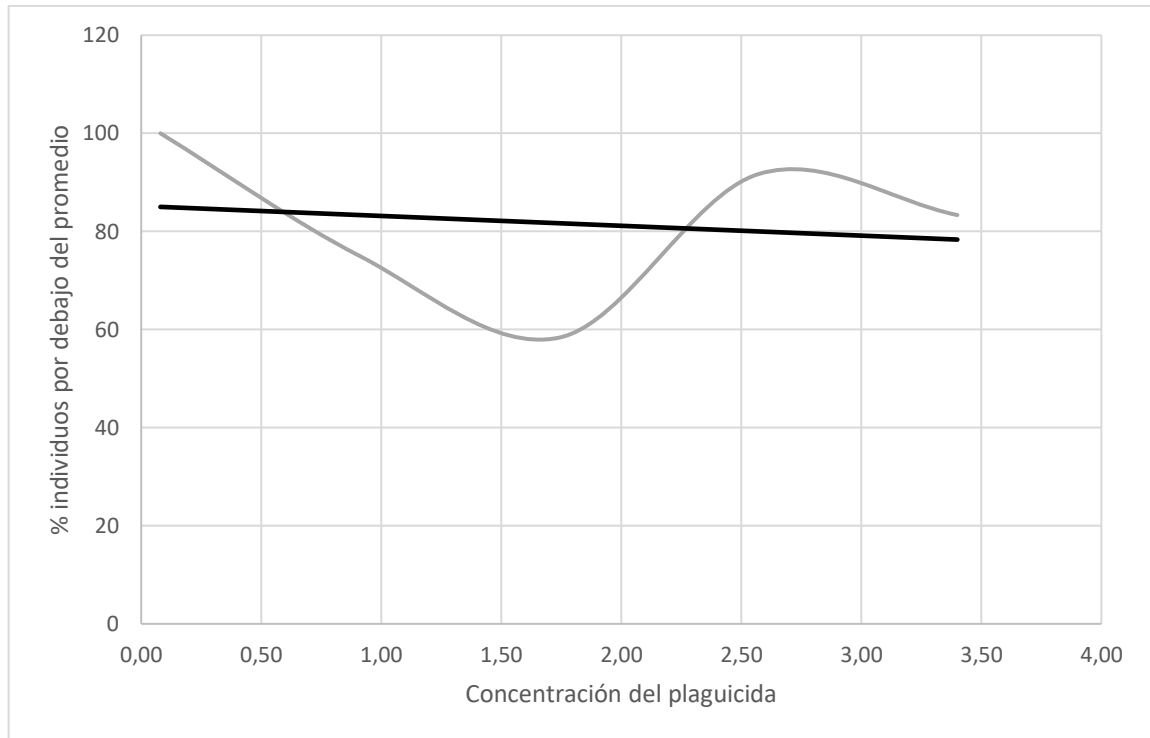
Grafico 17. Dosis-respuesta, variable Longitud de raíz. Plaguicida B.



Fuente: Autor.

Las variables Longitud de raíz y diferencia de altura se ven relacionadas una con otra ya que sus comportamientos son similares, presentando una reducción de los individuos afectados por el plaguicida. Al parecer, ante una cantidad más diluida del plaguicida, la respuesta biológica por cada individuo es mayor, esto se puede deber a que a ciertas concentraciones la planta responde de forma negativa o se adecua al xenobiótico, las sustancias que provocan este efecto tienen un comportamiento en forma de U o U invertida y varía entre cada concentración, ya que pueden llegar a un punto donde la concentración se presente afecciones negativas y fuera de esa concentración se presentan beneficios fisiológicos. Este tipo de sustancias son conocidas como hormetinas, Luckey y Venugopal (1977) denominaron hormetinas a todas aquellas sustancias que absorbidas a pequeñas dosis ejercen un efecto beneficioso para los procesos fisiológicos, pero que a dosis más altas o cuando dosis bajas repetidas originan concentraciones tisulares elevadas, dan lugar a efectos tóxicos [47].

Grafico 18. Dosis-respuesta, variable Peso fresco. Plaguicida B.

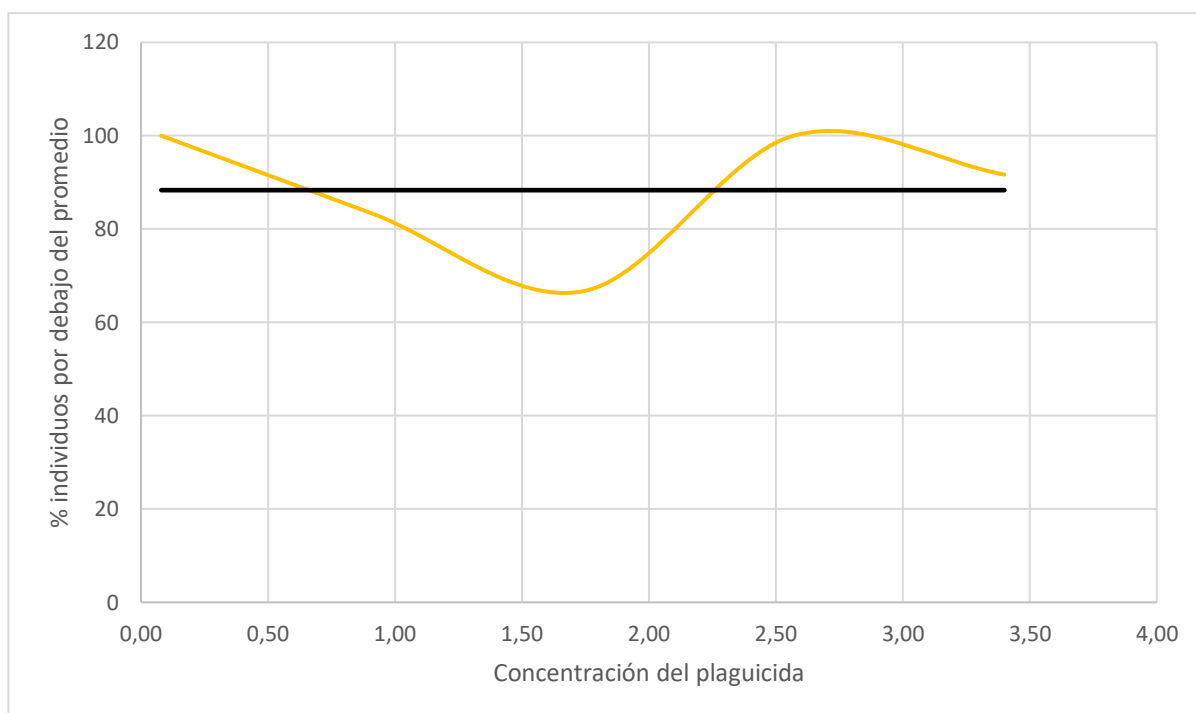


Fuente: Autor.

Para la variable de peso fresco, es una de las más sensibles debido a que afecta a más de la mitad de la población independientemente de la concentración administrada, esto indica que a pesar de presentar hojas o raíces más grandes o del mismo tamaño que las del grupo control, la densidad de las mismas es diferente, es decir, que aunque la longitud de la lechuga no muestre alteración aparente, la cantidad de ramificaciones y grosor de las raíces es influenciada por el plaguicida afectando así el peso de la planta.

Para el siguiente gráfico sobre el peso seco, ocurre lo mismo, más de la mitad de la población es afectada por el plaguicida, esta vez se puede ver afectada respecto a la cantidad de masa que posee la planta durante el crecimiento, asimismo el porcentaje de agua conservado o retenido mediante sus raíces y hojas. El hecho de que este por debajo de la media del grupo control, indica que la característica más importante de este tipo de hortalizas es afectada de manera negativa por la aplicación de plaguicidas con Dimetoato como ingrediente activo.

Grafico 19. Dosis-respuesta, variable Peso Seco. Plaguicida B.



Fuente: Autor.

5. IMPACTO SOCIAL

Al encontrar que en concentraciones bajas de plaguicidas organofosforados, con ingrediente activo Dimetoato, afectan el desarrollo fisiológico de las plantas tanto en la longitud de raíz, como la longitud superficial de la misma, que no son el órgano diana del plaguicida; se evidencia la peligrosidad al consumir alimentos que contengan trazas de dichos plaguicidas ya que, a futuro la persona puede presentar enfermedades como consecuencia de este xenobiótico en su sistema, a pesar de que la planta visualmente se vea apta para el consumo humano.

Adicionalmente, debido a la acción sistémica del plaguicida, es de fácil absorción por la piel de la persona que manipule el producto sin la adecuada protección debido a la escasa información que se les provee a los trabajadores agrícolas sobre los peligros que implica el manejo y uso de plaguicidas, se espera que con los resultados presentados anteriormente, los trabajadores formen conocimiento del riesgo que corren al no manejar los químicos para protección de cultivos según las indicaciones de uso del mismo. Así mismo, al no exceder las concentraciones aconsejadas, los efectos sobre los recursos no renovables se verán disminuidos debido a que el proceso de eliminación del xenobiótico se desarrollara en el periodo estimado de aquellos plaguicidas de corta persistencia.

6. CONCLUSIONES

A pesar de que se le brindo a las plántulas un ambiente controlado de crecimiento, simulando las condiciones óptimas donde no se veían afectadas por escases de agua, sobre colocación de hojas entre individuos, falta de nutrientes en el suelo, fuertes vientos o lluvias agresivas, las plántulas presentaron cambios significativos en su fisionomía, alterando el crecimiento de las raíces, y en algunos casos, hasta la abundancia de las raíces como se puede observar en algunas imágenes anteriores, además de un crecimiento acelerado de las hojas o en otros casos tardío, todo esto ocasionado al ser expuesta la plántula al plaguicida con el ingrediente activo Dimetoato, ambos plaguicidas tenían la misma concentración de ingrediente activo, sin embargo, los coadyuvantes presentes en cada uno varían pues pertenecen a casas comerciales diferentes. Sin embargo, ninguno de los dos productos fitosanitarios especifica cuáles son estas sustancias adicionales que agregan al insecticida, tampoco se encontró hojas de seguridad que mencionaran los nombres de dichas sustancias.

Después de los resultados presentados en el ensayo preliminar donde al observar que las plántulas presentaban muerte de la mayoría o totalidad de sus individuos, se estimó la concentración letal de cada plaguicida al finalizar el pre-ensayo dando como resultado para el Plaguicida A una concentración letal 50 de 23,1466 ml/L mientras que para el Plaguicida B 46,6606 ml/L. Lo cual corroboró la decisión de realizar las concentraciones según el plaguicida (casa comercial) y no por ingrediente activo, debido a que el Plaguicida A es visiblemente más peligroso para los individuos causando la muerte del organismo a una concentración menor que la del Plaguicida B, por consiguiente, las concentraciones del Plaguicida A fueron más bajas que las concentraciones del Plaguicida B para el ensayo final.

En ambos bioensayos finales se evaluaron las mismas variables en periodos preestablecidos, que al ser comparados estadísticamente con el grupo control mediante el software SPSS, se concluye que las variables peso seco y peso fresco son las más afectadas durante el crecimiento de la plántula al ser expuesta a una única aplicación del plaguicida con ingrediente activo Dimetoato. Debido a que hay plántulas de gran tamaño horizontal, pero de altura menor, provocando que al secar los organismos tratados a la misma temperatura, no todos logren un porcentaje de humedad cercano a cero. Mediante el análisis estadístico DMS, el Plaguicida A manifestó una diferencia importante entre los tratamientos y el grupo control en cada una de las variables; mientras que el Plaguicida B, no se vio diferencia con respecto al grupo control y la variable diferencia de altura, pero en el resto de las variables sí.

La variable respuesta longitud de la raíz mostró alteraciones con respecto a la concentración más baja utilizada tanto en el Plaguicida A y como en el B, 0,04 ml/L y 0,08 ml/L respectivamente, y el tratamiento 4 (0,94 ml/L de Plaguicida A y 2,57 ml/L de Plaguicida B). lo cual evidencia, que a pesar de que ambas concentraciones son diferentes el resultado sobre la variable respuesta es igual para ambos plaguicidas. Caso contrario fue expuesto en la variable respuesta de diferencia de altura donde el Plaguicida A afectó significativamente a la plántula a una concentración de 0,04 ml/L y 0,64 ml/L, mientras que el plaguicida B no mostró cambios significativos respecto al grupo control con dicha variable.

Aunque no todas las variables presentaron cambios estadísticamente significativos, si hay una diferencia notable al ser comparados con el grupo control, lo que demuestra que los plaguicidas si afectan el crecimiento normal de los cultivos ya sea aumentando el tamaño de la planta o disminuyendo la cantidad y longitud de raíces, y a pesar de que algunos individuos logren el mismo tamaño que las del grupo testigo, su peso no será el mismo, perdiendo en este caso su cualidad más destacada la cual es su peso en agua, pues del 90 al 95% de su peso es agua. Dando como resultado, que la variable considerablemente sensible es el peso de la plántula.

Algunos de los organismos presentaban diferencia positiva respecto al grupo control, es decir, algunas plántulas expuestas al xenobiótico mostraron un mayor tamaño que las del grupo control; este efecto es producido por sustancias hormetinas, término perteneciente a aquellas sustancias que al ser absorbidas en pequeñas dosis ejercen un efecto beneficioso para los procesos fisiológicos. Esto fue el caso de la diferencia de altura de las plantas expuestas al insecticida A en contraste con el grupo testigo y lo ocurrido con las variables longitud de la planta y de la raíz para el insecticida B.

Al desarrollar los comandos necesarios en el programa de ProStat con el fin de encontrar la concentración efectiva 50, se identificó que los valores del Plaguicida A eran más bajos para las variables diferencia de altura y peso fresco que los del Plaguicida B; demostrado mayor sensibilidad ante la composición del plaguicida utilizado. Para la variable longitud de raíz, el plaguicida B presentó valores nulos para la CE_{50} a diferencia del Plaguicida A que tuvo un valor de 0,055 ml/L. Con respecto a las gráficas realizadas de dosis respuesta por cada variable, se vio una relación de ambos plaguicidas hacia las variables peso seco y peso fresco, afectando a los individuos de forma negativa ya que estas plantas se encuentran por debajo del promedio con respecto a las plantas no tratadas (grupo testigo). Sin embargo, las variables de longitud de raíz y diferencia de altura no muestran un comportamiento definido respecto a la concentración utilizada en cada uno de los

tratamientos, se determinó que otras variables como la densidad de las raíces y su grosos también son de influencia y deben ser tomadas en cuenta, ya que no siempre una raíz larga representa una planta sana.

Todo lo anterior demuestra, como a pesar de ambos poseen el mismo ingrediente activo, Dimetoato perteneciente a la familia de los organofosforados, los resultados sobre la planta son diferentes, esto puede deberse a los coadyuvantes utilizados por cada casa comercial, haciendo del plaguicida más o menos peligroso para los cultivos. Por consiguiente, lo mejor sería evaluar la toxicidad del plaguicida en general y no solo del ingrediente activo, ya que dependiendo de la cantidad y estructura del mismo varia las alteraciones sobre el medio en el que se aplica.

Adicionalmente, hay que aclarar que durante el transporte de las plantas entre laboratorios, y el transporte de las plantas entre el lugar de ejecución del experimento y la ciudad donde se elaboró el análisis físico de las mismas, son tiempos en los que la planta no se abasteció de agua ni de los nutrientes del suelo, lo cual puede provocar cambios en la composición del individuo antes de ser analizada. Este proceso de transporte también puede ser un factor importante durante la pérdida de algunos de los individuos, provocando que aquellos valores faltantes se estimaran de forma matemática.

Como sugerencia, se requiere mayor análisis respecto a la raíz de la planta, ya que a pesar de que su longitud sea igual o mayor a la del grupo testigo, no siempre tenía la misma cantidad de ramificaciones, lo cual también debería ser considerado a la hora de analizar el factor peso. Adicionalmente, hay que recalcar que no se tuvo control sobre las condiciones ambientales sobre el cultivo analizado, es decir, que debido a que se realizaron en meses diferentes, el ensayo preliminar entre noviembre-diciembre y el ensayo final entre enero-febrero, causó como resultado que unos estuvieran expuestos a temperaturas más extremas que otros; por ejemplo, la temperatura máxima registrada durante el ensayo preliminar fue de 38°C mientras que para el ensayo final fue de más de 44 °C lo cual también es un factor de influencia en la toxicodinámica del químico y la planta.

Otro elemento para tener en cuenta es el número de individuos utilizados por replicas, si bien se utilizó un numero representativo de individuos por replica en cada tratamiento, para disminuir el rango de error y más entre individuos de desarrollo variante, se debería realizar el experimento con un número superior a 12 individuos por tratamiento para que el margen biológico no sea un inconveniente mayor durante el desarrollo del ensayo y su posterior análisis. Fue por esta razón que se cambió el valor del nivel de significancia o alfa, debido a la variabilidad biológica

entre individuos de la misma especie, aumentando de 0,05 a 0,07, sin embargo, puede ser ajustada de forma más estricta aumentando la potencia de la prueba, esto se produce al elevar el tamaño de la muestra, obteniendo más información sobre los organismos.

Otra sugerencia, es controlar la mayor cantidad de variables posibles, en este caso, tener mayor control de las condiciones ambientales (temperatura, humedad, exposición al sol, etc.) a las que se exponen los organismos para no tomar posteriormente estos datos como factores de alteración a los resultados, adicionalmente, se puede tener un mayor control de las condiciones que afecta el peso de la plántula, especialmente el peso seco, esta variable debe ser tratada con mayor rigor ya que es una de las que presenta mayor variabilidad significativa de medias en ambos bioensayos; siendo así, una de las variables mas importantes al momento de analizar la fitotoxicidad.

Concluyendo, este proyecto busca que se evalúen no solo el ingrediente activo de los productos de protección de cultivos, sino también, que se evalúen las combinación y coadyuvantes agregados; pues son un factor importante al momento de entrar en contacto con la plantación que se desea proteger, debido a que es posible que algún ingrediente adicional ayude al xenobiótico a fijarse por mayor tiempo dentro del organismo. Además, causa alteraciones a los recursos abióticos y organismos no blanco que terminan siendo afectados negativamente al no poder sintetizar estos productos antes de que generen un efecto. Adicionalmente, se deberían enunciar las sustancias inherentes agregadas al plaguicida de forma específica para que el consumidor tenga conocimiento de todos los ingredientes que forman la mezcla, es decir, que tenga conocimiento del contenido neto del producto que esta adquiriendo, al igual que las consecuencias toxicológicas que la mezcla pueda producir en el ambiente, el organismo diana y no diana a corto y largo plazo.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] O. Cárdenas, E. Silva y J. Ortiz, «Uso de plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa en once entidades territoriales de salud en Colombia,» Bogotá D.C., 2010.
- [2] Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), «Estadísticas de comercialización de plaguicidas químicos de uso agrícola 2010,» Produmedios, Bogotá, 2011.
- [3] J. Kumar, G. Dubey y G. R., «Study the effect of insecticide dimethoate on photosynthetic pigments and photosynthetic activity of pigeon pea: Laser-induced chlorophyll fluorescence spectroscopy,» *Journal of Photochemistry and Photobiology*, vol. 151, pp. 297-305, 2015.
- [4] Bios Argentina, «Lechuga con dimetoato y clorpirifos,» Buenos Aires, 2010.
- [5] P. Castro, J. Ramos, S. Estévez y A. Rangel, «Residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de tomate,» Bogotá D.C., 2004.
- [6] I. Barguil, N. M. J. Pinto y J. Aristizábal, «Síndrome intermedio en intoxicación aguda por organofosforados: reporte de caso,» Medellín , 2012.
- [7] G. González, «Intoxicación por plaguicidas: Casuística del Hospital Universitario del Caribe y de la Clínica Universitaria San Juan de Dios de Cartagena,» Bogotá D.C., 2011.
- [8] SEMARNAT: Secretaría de ambiente y recursos naturales, «Riesgos de los plaguicidas para el ambiente,» Mexico, 2015.
- [9] A. Lorenzo-Flores, G. Giacomán, M. Ponce-Caballero y H. Ghomeisi, «Adsorption of organophosphorus pesticides in tropical soils: The case of karst landscape of northwestern Yucatan,» *Chemosphere*, nº 166, pp. 292-299, 2016.
- [10] A. Lorenzo-Flores, G. Giacomán, M. Ponce y H. Ghomeisi, «Adsorption of organophosphorus pesticides in tropical soils: The case of Karst landscape of northwestern Yucatan,» *Chemosphere*, nº 166, pp. 292-299, 2016.
- [11] BASF Química Colombiana, S. A., «Roxion 40 EC,» 2014. [En línea]. Available: <http://www.agrohacienda.com.co>. [Último acceso: 10 Agosto 2016].
- [12] P. Gilling, «Evaluación de la Toxicidad de un lodo anaerobio en plantas terrestres,» Santiago de Cuba, 2006.
- [13] Addinsoft XLSTAT, «XLSTAT,» 6 Mayo 2016. [En línea]. Available: <https://help.xlstat.com>. [Último acceso: 21 Enero 2018].

- [14] IBM, «IBM Knowledge Center,» IBM's Corporate Privacy Office , [En línea]. Available: <https://www.ibm.com>. [Último acceso: 8 Enero 2017].
- [15] R. M. y S. P., «Glosario de terminos toxicologicos,» 1993.
- [16] G. Castillo, Ensayos toxicologicos y metodos de evaluación de calidad de agua.Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, Mexico: © Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, 2004.
- [17] NIH Office of Science Education, «Dose-Response Relationships,» de *Chemicals, the Environment, and You: Explorations in Science and Human Health*, Washington, D.C., pp. 61-62.
- [18] «Toxicologia,» Curva dosis-respuesta, 5 Octubre 2011. [En línea]. Available: <https://guiatoxicologia.wordpress.com>. [Último acceso: 15 Febrero 2017].
- [19] Á. Fernández, «Cálculo de la NOEC y la LOEC para el consumo de alimento en el anfípodo *Gammarus pulex*,» Madrid, 2017.
- [20] M. M.A. y P. M.A., «NOEC and LOEC as merely concessive expedients: two unambiguous alternatives and some criteria to maximize the efficiency of dose-response experimental designs,» Instituto de Investigaci3n Mariñas , Galicia.
- [21] Eroski Consumer, «Hortalizas y verduras. Guia Practica de verduras,» undaci3n EROSKI, [En línea]. Available: <http://verduras.consumer.es>. [Último acceso: 12 Febrero 2016].
- [22] Núcleo Ambiental S.A.S., «Manual Lechuga,» Bogotá D.C., 2015.
- [23] Infoagro, «El cultivo de la lechuga,» Copyright Infoagro Systems, S.L., 20 Diciembre 2010. [En línea]. Available: <http://www.infoagro.com>. [Último acceso: 11 Febrero 2016].
- [24] C. Carranza, O. Lanchero, D. Miranda y B. Chaves, «Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) 'Batavia' cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá,» *Agronomía Colombiana*, vol. 27, nº 1, 2009.
- [25] A. Tarigo, C. Repetto y D. Acosta, «Evaluaci3n agron3mica de biofertilizantes en la producci3n de lechuga (*Lactuca sativa*) a campo,» Universidad de La Republiica, Montevideo, 2004.
- [26] «El cultivo de la lechuga,» Universidad de Valladolid, Valladolid , 2013.
- [27] J. Quintero, «La Lechuga,» NEOGRAFIS SL, Madrid.
- [28] M. Sobrero, «Estudio de la fitotoxicidad de metales pesados y del herbicida glifosato en ambientes acuáticos. bioensayos con plantas vasculares como organismos diagnóstico,» La Plata, 2010.

- [29] M. Sobrero y A. Ronco, «Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L.,» de *Ensayos toxicologicos para la evaluacion de sustancias quimicas en agua y suelo*, Mexico D.F., Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), 2008, pp. 55-67.
- [30] K. Sánchez y L. Sánchez, «Determinación de la concentración de inhibición medi (CE50-120) del bario, hierro y magnesio mediante bioensayos de toxicidad acuatica sobre semillas de lechuga (*Lactuca sativa*),» Bogotá D.C., 2009.
- [31] R. M. y S. P., «GLOSARIO DE TERMINOS TOXICOLOGICOS,» ASOCIACION ESPAÑOLA DE TOXICOLOGIA, 1993.
- [32] M. Repetto y G. Repetto., «Transito de los xenobioticos en el organosmo. Toxicocinetica,» de *Toxicologia fundamental*, Díaz de Santos, 2009, pp. 60-80.
- [33] Universidad de Granada, «Toxicologia basica o fundamental,» AreaBinaria, 2005. [En línea]. Available: <http://www.ugr.e>. [Último acceso: 22 Enero 2018].
- [34] E. Román, «Toxicologia laboral».
- [35] R. Benitez, «Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: un estado del arte,» Paraguay, 2012.
- [36] L. Quintero, «Organofosforados y carbamatos,» 2015.
- [37] «Plaguicidas,» Creative Commons, 2014. [En línea]. Available: <http://www.elhogarnatural.com>. [Último acceso: 15 Agosto 2016].
- [38] B. Mohammad y V. S, «Insecticidas organofosforados: Efectos sobre la salud y el ambiente,» Culcyt, Mexico, 2008.
- [39] Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, «Ficha tecnica: Dimetoato,» Mexico, 2009.
- [40] Nufarm, «Hoja de seguridad: Dimetoato,» 2012.
- [41] P. Carías, «Entre los 11 pesticidas por los que aboga Funes hay nefrotóxicos y cancerígenos,» 9 Diciembre 2013. [En línea]. Available: <http://www.elfaro.net>. [Último acceso: 24 Agosto 2016].
- [42] G. Hernández-Ruiz, N. Álvarez-Orozco y L. Ríos-Orsorio, «Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en sualos agrícolas: revisión sistemática,» *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, vol. 18, nº 1, pp. 139-156, 2017.
- [43] Basf Química, «Roxion 40 EC,» Agromundo Ltda, [En línea]. Available: <http://www.agromundoltda.com>. [Último acceso: 25 Agosto 2016].

- [44] Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) , «Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test,» Publications Service, Paris , 2006.
- [45] d. I. R.-D. B., M. A. y G. A., «DETERMINACIÓN DE MATERIA SECA EN PASTOS Y FORRAJES A PARTIR DE LA TEMPERATURA DE SECADO PARA ANALISIS,» Villaviciosa, Asturias, 2002.
- [46] M. Novoa, C. A. Martínez y E. Real, «Análisis proximales,» de *MANUAL DE TECNICAS PARA LABORATORIO DE NUTRICION DE PECES Y CRUSTACEOS*, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1993.
- [47] M. Repetto y G. Repetto, «Conceptos y definiciones de toxicología,» de *Toxicología fundamental*, Diaz de Santos, 2009, p. 39.
- [48] Investigación en atención a la diversidad, «EL ANÁLISIS DE DATOS MEDIANTE PROCEDIMIENTOS INFORMATICOS,» Cordoba, 2009.

8. ANEXOS

Anexo 1. Análisis del suelo

		RESULTADOS DE ANÁLISIS QUÍMICO - CARACTERIZACIÓN Q-01 GESTIÓN AGROLÓGICA										FECHA AAAA-MM-DD 2016-10-04	
NOMBRE Y APELLIDO / EMPRESA / PROYECTO ALEJANDRA RAMIREZ										TIPO DE MUESTRA SUELO		No. SOLICITUD 1596_1	
DEPARTAMENTO / MUNICIPIO / LOCALIZACIÓN Cundinamarca - Soacha													
SUPLEMENTO DE RESULTADOS										DIRECCIÓN DEL CLIENTE CARRERA 5 A No. 14-46 SOACHA			
No. DE LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO	GRANULOMETRÍA		CLASE TEXTURAL	GRAVILLA %	RELACION	pH	ACIDEZ INTER cmol+/kg	SALINIDAD CE (dS/m)	CaCO3 Cuantitativo*	CARBONO ORGÁNICO %	CARBONO TOTAL	FOSFORO DISPONIBLE mg/kg
		ARENA %	ARCILLA %										
MO1-18832	VIVERO 01	68.7	41.1	2.2	F A*	1:1	5.0	<0.23	0.88	-	-	9.85	8.80
ELEMENTOS MENORES mg/kg													
COMPLEJO DE CAMBIO cmol+/kg		S.B. %											
CPC	Ca	Mg	K	Na	B.T.	Min	Fe	Zn	Cu	B	S	N-TOTAL %	S-TOTAL %
43.3	3.878	2.820	4.728	1.223	12.444	-	-	-	-	-	-	-	-
Observaciones: *LA MUESTRA NO DISPERSO APROPIADAMENTE EL % DE ARCILLA PUEDE SER MAYOR.													

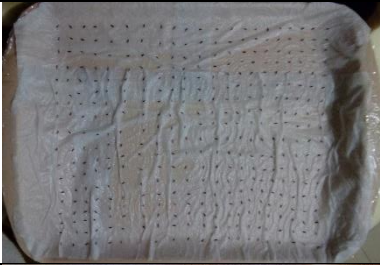
Fuente: Análisis de laboratorio, IGAC.

Anexo 2. Seguimiento fotográfico, pre-ensayo

Fechas de germinación	Evidencia Fotográfica
Germinación en bandeja: Noviembre 7 de 2016	
Seguimiento de germinación en bandeja: Noviembre 9 de 2016	
Seguimiento de germinación en bandeja: Noviembre 12 de 2016	
Seguimiento de germinación fase 2: Noviembre 19 de 2016	
Seguimiento de germinación fase 2: Noviembre 27 de 2016	

Fuente: Autor.

Anexo 3. Seguimiento fotográfico, ensayo

Fechas de germinación	Evidencia Fotográfica
Germinación en bandeja: Enero 3 de 2017	
Seguimiento de germinación en bandeja: Enero 5 de 2017	
Seguimiento de germinación en bandeja: Enero 6 de 2017	
Seguimiento de germinación fase 2: Enero 18 de 2017	
Seguimiento de germinación fase 2: Enero 23 de 2017	

Fuente: Autor.

Anexo 4. Concentración letal 50, Plaguicida A.

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

Input Data ...

Dose/Concentration ->	Concentración
Dead Number ->	muertos
Total Number ->	población
Control Group ->	muerte control

Results ...

Parameter A:	-2.89791511
Parameter B(slope):	2.12381277
Deviance:	17.63301771
AIC:	32.75047466
LD50/LC50 Value:	23.14659415
LOG10(LD50/LC50) Value:	1.3644871
95% Confidence Interval for LD50/LC50...	
Lower Limit:	12.61467914
Upper Limit:	42.47153771

```
=====
```

Fuente: Software ProStat.

Anexo 5. Concentración letal 50, Plaguicida B.

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

Input Data ...

```

Dose/Concentration ->          Concentración
Dead Number ->                muertos
Total Number ->               población
Control Group ->              muerte control
```

Results ...

```

Parameter A:                  -2.3453777
Parameter B(slope):           1.40530062

Deviance:                     30.2610815
AIC:                          48.62225932

LD50/LC50 Value:              46.66065993
LOG10(LD50/LC50) Value:       1.66895088
```

95% Confidence Interval for LD50/LC50...

```

Lower Limit:                  24.78197338
Upper Limit:                   87.85487549
```

```
=====
Fuente: Software ProStat.
```

Anexo 6. Análisis estadístico DMS, Plaguicida A

Comparaciones múltiples

DMS

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	93% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
DiferenciaAltura	1	2	-,8583250 [*]	,3878497	,040	-1,605464	-,111186
		3	-,0499750	,3878497	,899	-,797114	,697164
		4	-,8583500 [*]	,3878497	,040	-1,605489	-,111211
		5	-,5462250	,3878497	,176	-1,293364	,200914
		6	-,9000250 [*]	,3878497	,032	-1,647164	-,152886
	2	1	,8583250 [*]	,3878497	,040	,111186	1,605464
		3	,8083500 [*]	,3878497	,052	,061211	1,555489
		4	-,0000250	,3878497	1,000	-,747164	,747114
		5	,3121000	,3878497	,431	-,435039	1,059239
		6	-,0417000	,3878497	,916	-,788839	,705439
	3	1	,0499750	,3878497	,899	-,697164	,797114
		2	-,8083500 [*]	,3878497	,052	-1,555489	-,061211
		4	-,8083750 [*]	,3878497	,052	-1,555514	-,061236
		5	-,4962500	,3878497	,217	-1,243389	,250889
		6	-,8500500 [*]	,3878497	,042	-1,597189	-,102911
	4	1	,8583500 [*]	,3878497	,040	,111211	1,605489
		2	,0000250	,3878497	1,000	-,747114	,747164
		3	,8083750 [*]	,3878497	,052	,061236	1,555514
		5	,3121250	,3878497	,431	-,435014	1,059264
		6	-,0416750	,3878497	,916	-,788814	,705464
	5	1	,5462250	,3878497	,176	-,200914	1,293364
		2	-,3121000	,3878497	,431	-1,059239	,435039
		3	,4962500	,3878497	,217	-,250889	1,243389
		4	-,3121250	,3878497	,431	-1,059264	,435014
		6	-,3538000	,3878497	,374	-1,100939	,393339
	6	1	,9000250 [*]	,3878497	,032	,152886	1,647164
		2	,0417000	,3878497	,916	-,705439	,788839
		3	,8500500 [*]	,3878497	,042	,102911	1,597189
		4	,0416750	,3878497	,916	-,705464	,788814
		5	,3538000	,3878497	,374	-,393339	1,100939
LongitudRaiz	1	2	-2,0000000	1,2233923	,119	-4,356697	,356697
		3	-1,9250000	1,2233923	,133	-4,281697	,431697
		4	-1,0000000	1,2233923	,424	-3,356697	1,356697
		5	-2,4500000 [*]	1,2233923	,061	-4,806697	-,093303
		6	-4,1250250 [*]	1,2233923	,003	-6,481722	-1,768328
	2	1	2,0000000	1,2233923	,119	-,356697	4,356697
		3	,0750000	1,2233923	,952	-2,281697	2,431697
		4	1,0000000	1,2233923	,424	-1,356697	3,356697
		5	-,4500000	1,2233923	,717	-2,806697	1,906697
		6	-2,1250250	1,2233923	,099	-4,481722	,231672
	3	1	1,9250000	1,2233923	,133	-,431697	4,281697
		2	-,0750000	1,2233923	,952	-2,431697	2,281697
		4	,9250000	1,2233923	,459	-1,431697	3,281697
		5	-,5250000	1,2233923	,673	-2,881697	1,831697
		6	-2,2000250	1,2233923	,089	-4,556722	,156672
	4	1	1,0000000	1,2233923	,424	-1,356697	3,356697
		2	-1,0000000	1,2233923	,424	-3,356697	1,356697
		3	-,9250000	1,2233923	,459	-3,281697	1,431697
		5	-1,4500000	1,2233923	,251	-3,806697	,906697
		6	-3,1250250 [*]	1,2233923	,020	-5,481722	-,768328
	5	1	2,4500000 [*]	1,2233923	,061	,093303	4,806697
		2	,4500000	1,2233923	,717	-1,906697	2,806697
		3	,5250000	1,2233923	,673	-1,831697	2,881697
		4	1,4500000	1,2233923	,251	-,906697	3,806697
		6	-1,6750250	1,2233923	,188	-4,031722	,681672
	6	1	4,1250250 [*]	1,2233923	,003	1,768328	6,481722
		2	2,1250250	1,2233923	,099	-,231672	4,481722
		3	2,2000250	1,2233923	,089	-,156672	4,556722
		4	3,1250250 [*]	1,2233923	,020	,768328	5,481722
		5	1,6750250	1,2233923	,188	-,681672	4,031722

PesoFresco	1	2	-.6015250	.7138148	.410	-1,976591	.773541
		3	-.0737500	.7138148	.919	-1,448816	1,301316
		4	-1,0909750	.7138148	.144	-2,466041	.284091
		5	-.4493250	.7138148	.537	-1,824391	.925741
		6	-2,1857500*	.7138148	.007	-3,560816	-.810684
	2	1	.6015250	.7138148	.410	-.773541	1,976591
		3	.5277750	.7138148	.469	-.847291	1,902841
		4	-.4894500	.7138148	.502	-1,864516	.885616
		5	.1522000	.7138148	.834	-1,222866	1,527266
		6	-1,5842250*	.7138148	.040	-2,959291	-.209159
	3	1	.0737500	.7138148	.919	-1,301316	1,448816
		2	-.5277750	.7138148	.469	-1,902841	.847291
		4	-1,0172250	.7138148	.171	-2,392291	.357841
		5	-.3755750	.7138148	.605	-1,750641	.999491
		6	-2,1120000*	.7138148	.008	-3,487066	-.736934
	4	1	1,0909750	.7138148	.144	-.284091	2,466041
		2	.4894500	.7138148	.502	-.885616	1,864516
		3	1,0172250	.7138148	.171	-.357841	2,392291
		5	.6416500	.7138148	.381	-.733416	2,016716
		6	-1,0947750	.7138148	.142	-2,469841	.280291
	5	1	.4493250	.7138148	.537	-.925741	1,824391
		2	-.1522000	.7138148	.834	-1,527266	1,222866
		3	.3755750	.7138148	.605	-.999491	1,750641
		4	-.6416500	.7138148	.381	-2,016716	.733416
		6	-1,7364250*	.7138148	.026	-3,111491	-.361359
	6	1	2,1857500*	.7138148	.007	.810684	3,560816
		2	1,5842250*	.7138148	.040	.209159	2,959291
		3	2,1120000*	.7138148	.008	.736934	3,487066
		4	1,0947750	.7138148	.142	-.280291	2,469841
		5	1,7364250*	.7138148	.026	.361359	3,111491
PesoSeco	1	2	-.0103500	.0855958	.905	-.175238	.154538
		3	-.0146000	.0855958	.866	-.179488	.150288
		4	-.0555750	.0855958	.524	-.220463	.109313
		5	-.1088750	.0855958	.220	-.273763	.056013
		6	-.3415000*	.0855958	.001	-.506388	-.176612
	2	1	.0103500	.0855958	.905	-.154538	.175238
		3	-.0042500	.0855958	.961	-.169138	.160638
		4	-.0452250	.0855958	.604	-.210113	.119663
		5	-.0985250	.0855958	.265	-.263413	.066363
		6	-.3311500*	.0855958	.001	-.496038	-.166262
	3	1	.0146000	.0855958	.866	-.150288	.179488
		2	.0042500	.0855958	.961	-.160638	.169138
		4	-.0409750	.0855958	.638	-.205863	.123913
		5	-.0942750	.0855958	.285	-.259163	.070613
		6	-.3269000*	.0855958	.001	-.491788	-.162012
	4	1	.0555750	.0855958	.524	-.109313	.220463
		2	.0452250	.0855958	.604	-.119663	.210113
		3	.0409750	.0855958	.638	-.123913	.205863
		5	-.0533000	.0855958	.541	-.218188	.111588
		6	-.2859250*	.0855958	.004	-.450813	-.121037
	5	1	.1088750	.0855958	.220	-.056013	.273763
		2	.0985250	.0855958	.265	-.066363	.263413
		3	.0942750	.0855958	.285	-.070613	.259163
		4	.0533000	.0855958	.541	-.111588	.218188
		6	-.2326250*	.0855958	.014	-.397513	-.067737
	6	1	.3415000*	.0855958	.001	.176612	.506388
		2	.3311500*	.0855958	.001	.166262	.496038
		3	.3269000*	.0855958	.001	.162012	.491788
		4	.2859250*	.0855958	.004	.121037	.450813
		5	.2326250*	.0855958	.014	.067737	.397513

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.07.

Fuente: Pruebas post-hoc, Software SPSS.

Anexo 7. Análisis estadístico DMS, Plaguicida B

Comparaciones múltiples

DMS

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	93% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
DiferenciaAltura	1	2	,1416750	,4517327	,757	-,728526	1,011876
		3	-,9583250*	,4517327	,048	-1,828526	-,088124
		4	,0250000	,4517327	,956	-,845201	,895201
		5	-,1416750	,4517327	,757	-1,011876	,728526
		6	-,3250250	,4517327	,481	-1,195226	,545176
		2	-,1416750	,4517327	,757	-1,011876	,728526
	2	3	-1,1000000*	,4517327	,026	-1,970201	-,229799
		4	-,1166750	,4517327	,799	-,986876	,753526
		5	-,2833500	,4517327	,538	-1,153551	,586851
		6	-,4667000	,4517327	,315	-1,336901	,403501
		1	,9583250*	,4517327	,048	,088124	1,828526
	3	2	1,1000000*	,4517327	,026	,229799	1,970201
		4	,9833250*	,4517327	,043	,113124	1,853526
		5	,8166500	,4517327	,087	-,053551	1,686851
		6	,6333000	,4517327	,178	-,236901	1,503501
		1	-,0250000	,4517327	,956	-,895201	,845201
	4	2	,1166750	,4517327	,799	-,753526	,986876
		3	-,9833250*	,4517327	,043	-1,853526	-,113124
		5	-,1666750	,4517327	,716	-1,036876	,703526
		6	-,3500250	,4517327	,448	-1,220226	,520176
		1	,1416750	,4517327	,757	-,728526	1,011876
	5	2	,2833500	,4517327	,538	-,586851	1,153551
		3	-,8166500	,4517327	,087	-1,686851	,053551
		4	,1666750	,4517327	,716	-,703526	1,036876
		6	-,1833500	,4517327	,690	-1,053551	,686851
		1	,3250250	,4517327	,481	-,545176	1,195226
	6	2	,4667000	,4517327	,315	-,403501	1,336901
		3	-,6333000	,4517327	,178	-1,503501	,236901
		4	,3500250	,4517327	,448	-,520176	1,220226
		5	,1833500	,4517327	,690	-,686851	1,053551
LongitudRaiz	1	2	-,7666500	1,4076655	,593	-3,478323	1,945023
		3	-1,1499500	1,4076655	,425	-3,861623	1,561723
		4	,2750000	1,4076655	,847	-2,436673	2,986673
		5	-1,3333000	1,4076655	,356	-4,044973	1,378373
		6	-3,0166750*	1,4076655	,046	-5,728348	-,305002
	2	1	,7666500	1,4076655	,593	-1,945023	3,478323
		3	-,3833000	1,4076655	,788	-3,094973	2,328373
		4	1,0416500	1,4076655	,469	-1,670023	3,753323
		5	-,5666500	1,4076655	,692	-3,278323	2,145023
		6	-2,2500250	1,4076655	,127	-4,961698	,461648
	3	1	1,1499500	1,4076655	,425	-1,561723	3,861623
		2	,3833000	1,4076655	,788	-2,328373	3,094973
		4	1,4249500	1,4076655	,325	-1,286723	4,136623
		5	-,1833500	1,4076655	,898	-2,895023	2,528323
		6	-1,8667250	1,4076655	,201	-4,578398	,844948
	4	1	-,2750000	1,4076655	,847	-2,986673	2,436673
		2	-1,0416500	1,4076655	,469	-3,753323	1,670023
		3	-1,4249500	1,4076655	,325	-4,136623	1,286723
		5	-1,6083000	1,4076655	,268	-4,319973	1,103373
		6	-3,2916750*	1,4076655	,031	-6,003348	-,580002
	5	1	1,3333000	1,4076655	,356	-1,378373	4,044973
		2	,5666500	1,4076655	,692	-2,145023	3,278323
		3	,1833500	1,4076655	,898	-2,528323	2,895023
		4	1,6083000	1,4076655	,268	-1,103373	4,319973
		6	-1,6833750	1,4076655	,247	-4,395048	1,028298
	6	1	3,0166750*	1,4076655	,046	,305002	5,728348
		2	2,2500250	1,4076655	,127	-,461648	4,961698
		3	1,8667250	1,4076655	,201	-,844948	4,578398
		4	3,2916750*	1,4076655	,031	,580002	6,003348
		5	1,6833750	1,4076655	,247	-1,028298	4,395048

PesoFresco	1	2	-.8490000	,6022789	,176	-2,009207	,311207
		3	-.8388250	,6022789	,181	-1,999032	,321382
		4	-.0638500	,6022789	,917	-1,224057	1,096357
		5	-.1965750	,6022789	,748	-1,356782	,963632
		6	-2,0563250*	,6022789	,003	-3,216532	-.896118
	2	1	,8490000	,6022789	,176	-.311207	2,009207
		3	,0101750	,6022789	,987	-1,150032	1,170382
		4	,7851500	,6022789	,209	-.375057	1,945357
		5	,6524250	,6022789	,293	-.507782	1,812632
		6	-1,2073250*	,6022789	,060	-2,367532	-.047118
	3	1	,8388250	,6022789	,181	-.321382	1,999032
		2	-.0101750	,6022789	,987	-1,170382	1,150032
		4	,7749750	,6022789	,214	-.385232	1,935182
		5	,6422500	,6022789	,300	-.517957	1,802457
		6	-1,2175000*	,6022789	,058	-2,377707	-.057293
	4	1	,0638500	,6022789	,917	-1,096357	1,224057
		2	-.7851500	,6022789	,209	-1,945357	,375057
		3	-.7749750	,6022789	,214	-1,935182	,385232
		5	-.1327250	,6022789	,828	-1,292932	1,027482
		6	-1,9924750*	,6022789	,004	-3,152682	-.832268
	5	1	,1965750	,6022789	,748	-.963632	1,356782
		2	-.6524250	,6022789	,293	-1,812632	,507782
		3	-.6422500	,6022789	,300	-1,802457	,517957
		4	,1327250	,6022789	,828	-1,027482	1,292932
		6	-1,8597500*	,6022789	,006	-3,019957	-.699543
	6	1	2,0563250*	,6022789	,003	,896118	3,216532
		2	1,2073250*	,6022789	,060	,047118	2,367532
		3	1,2175000*	,6022789	,058	,057293	2,377707
		4	1,9924750*	,6022789	,004	,832268	3,152682
		5	1,8597500*	,6022789	,006	,699543	3,019957
PesoSeco	1	2	-.1072000	,0846519	,222	-.270270	,055870
		3	-.1066250	,0846519	,224	-.269695	,056445
		4	,0187000	,0846519	,828	-.144370	,181770
		5	-.0004000	,0846519	,996	-.163470	,162670
		6	-.3209250*	,0846519	,001	-.483995	-.157855
	2	1	,1072000	,0846519	,222	-.055870	,270270
		3	,0005750	,0846519	,995	-.162495	,163645
		4	,1259000	,0846519	,154	-.037170	,288970
		5	,1068000	,0846519	,223	-.056270	,269870
		6	-.2137250*	,0846519	,021	-.376795	-.050655
	3	1	,1066250	,0846519	,224	-.056445	,269695
		2	-.0005750	,0846519	,995	-.163645	,162495
		4	,1253250	,0846519	,156	-.037745	,288395
		5	,1062250	,0846519	,226	-.056845	,269295
		6	-.2143000*	,0846519	,021	-.377370	-.051230
	4	1	-.0187000	,0846519	,828	-.181770	,144370
		2	-.1259000	,0846519	,154	-.288970	,037170
		3	-.1253250	,0846519	,156	-.288395	,037745
		5	-.0191000	,0846519	,824	-.182170	,143970
		6	-.3396250*	,0846519	,001	-.502695	-.176555
	5	1	,0004000	,0846519	,996	-.162670	,163470
		2	-.1068000	,0846519	,223	-.269870	,056270
		3	-.1062250	,0846519	,226	-.269295	,056845
		4	,0191000	,0846519	,824	-.143970	,182170
		6	-.3205250*	,0846519	,001	-.483595	-.157455
	6	1	,3209250*	,0846519	,001	,157855	,483995
		2	,2137250*	,0846519	,021	,050655	,376795
		3	,2143000*	,0846519	,021	,051230	,377370
		4	,3396250*	,0846519	,001	,176555	,502695
		5	,3205250*	,0846519	,001	,157455	,483595

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.07.

Fuente: Pruebas post-hoc, Software SPSS.