

Evaluación del riesgo ambiental del insecticida rotenona sobre cuatro especies de invertebrados

José A. Iannacone¹

Gerardo Lamas²

RESUMEN

IANNAZONE JA, LAMAS G. 2003. *Evaluación del riesgo ambiental del insecticida rotenona sobre cuatro especies de invertebrados*. Rev. per. Ent. 43.- Se examinó el impacto ambiental de la rotenona extraída del barbasco (*Lonchocarpus nicou* (Aublet) DC, Fabaceae), sobre cuatro especies de animales. Los crustáceos *Moina macrocopa* (Sars) (ambiente dulceacuicola) y *Porcellio laevis* (Latreille) (ambiente terrestre), el díptero *Chironomus calligraphus* Goeldi (ambiente acuático), y el himenóptero *Muscidifurax raptorellus* Kogan & Legner (ambiente aéreo) fueron utilizados como organismos no destinatarios, empleando bioensayos agudos estáticos de corta duración a 24 y 48 h de exposición, para determinar el impacto toxicológico de la rotenona. Los valores de DL₅₀ (Dosis Letal media) para *P. laevis* y de CL₅₀ (Concentración Letal media) para *M. macrocopa*, *C. calligraphus* y *M. raptorellus* permitieron calcular los coeficientes de riesgo (RQs) para la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA) de este insecticida sobre el ecosistema. La secuencia en orden decreciente en términos de D (C)L₅₀ en mg de Ingrediente Activo l⁻¹ fue: *M. macrocopa* > *C. calligraphus* > *P. laevis* > *M. raptorellus*. El análisis de Nivel II (GENEEC) del ERA indicó un impacto moderado de la rotenona en el ambiente acuático.

Palabras clave: *Chironomus*, Evaluación de Riesgos Ambientales, *Lonchocarpus*, *Moina*, *Muscidifurax*, *Porcellio*, rotenona.

SUMMARY

IANNAZONE JA, LAMAS G. 2003. *Environmental risk assessment of the insecticide rotenone on four species of invertebrates*. Rev. per. Ent. 43.- The environmental impact of rotenone, extracted from *Lonchocarpus nicou* (Aublet) DC (Fabaceae), was examined on four invertebrate species. The crustaceans *Moina macrocopa* (Sars) (freshwater environment) and *Porcellio laevis* Latreille (terrestrial environment), the dipteran *Chironomus calligraphus* Goeldi (freshwater environment), and the hymenopteran *Muscidifurax raptorellus* Kogan & Legner (aerial environment) were used as non-target organisms, employing different models of acute bioassays of short duration at 24 and 48 h exposures to determine the toxicological impact of rotenone. Values of LD₅₀ (Lethal Dose mean) for *P. laevis*, and LC₅₀ (Lethal Concentration mean) for *M. macrocopa*, *C. calligraphus* and *M. raptorellus*, allowed calculation of the risk quotients (RQs) to determine the Environmental Risk Assessment (ERA) of this botanical product in the ecosystem. The sequence, in decreasing order, of L(D)₅₀ in terms of mg l⁻¹ of active ingredient were: *M. macrocopa* > *C. calligraphus* > *P. laevis* > *M. raptorellus*. Level II (GENEEC) analysis of the ERA indicated a moderate impact on the aquatic environment.

Key words: *Chironomus*, Environmental Risk Assessment, *Lonchocarpus*, *Moina*, *Muscidifurax*, *Porcellio*, rotenone.

Introducción

ARNING & LIZÁRRAGA (1999) indican que el manejo de plagas es una actividad que ha venido cumpliendo un rol de gran importancia en la producción agrícola de los diversos países del orbe. Las plagas constituyen uno de los principales problemas en la agricultura mundial, y su control por medio del uso masivo de plaguicidas, ha ocasionado una serie de consecuencias negativas para los agroecosistemas y la salud de las personas

(JEPSON 2000). El Manejo Ecológico de Plagas (MEP) es un sistema que regula las poblaciones de plagas, principalmente en forma preventiva, y sin utilizar compuestos o prácticas que pongan en peligro la salud de los agricultores, los consumidores y el ecosistema, evitando los plaguicidas químicos de origen sintético (RISSEY 2000). CISNEROS (1992) indica que el MEP tiene un enfoque ecológico pues toma en cuenta las relaciones que existen entre los diferentes componentes del ecosistema, en particular, aquellas de la plaga con la planta cultivada (susceptibilidad y resistencia), con sus enemigos naturales (control biológico), y con las condiciones físicas, mecánicas y agronómicas del medio (prácticas culturales). Además, maneja los estímulos que determinan el comportamiento de los insectos (feromonas, atrayentes, repelentes y otros biocidas botánicos), por lo

¹ Laboratorio de Ecofisiología, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Universidad Nacional Federico Villarreal, Calle San Marcos 383, Lima-21, Perú. E-mail: joseiannacone@hotmail.com

² Museo Nacional de Historia Natural, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Apartado 14-0434, Lima-14, Perú. E-mail: glamasm@unmsm.edu.pe

que es considerado un enfoque sustentable (ARNING & LIZÁRRAGA 1999). En adición, para la mayoría de los agricultores en el mundo, los insecticidas sintéticos comerciales son muy costosos o no están disponibles.

Así, dentro de la concepción del MEP, el uso de sustancias botánicas con propiedades biocidas es un medio para prevenir la presencia de organismos dañinos y se recomienda incorporar las especies de plantas dentro del agroecosistema, ya sea como repelentes, atrayentes o refugios naturales para la fauna benéfica (AZAM & RAZVI 2000). En los Andes del Perú se usa el «marco» (*Ambrosia peruviana* Willd.) como barrera viva contra algunas plagas, o el «nabo silvestre» (*Brassica napus* L.) como atrayente de pulgones, siendo estas especies solo una pequeña muestra de como las plantas pueden regular las poblaciones de las plagas (GOMERO 2000). El empleo de insecticidas botánicos fue frecuente en el Perú antes de 1950, estando entre ellos la rotenona o barbasco (*Lonchocarpus nicou* (Aublet) DC) (GOMERO 2000, VAN ANDEL 2000). Muchos químicos extraídos de diferentes partes de plantas han sido evaluados como agentes de control de insectos promisorios (MOLINA 2001). En realidad, el reino vegetal ofrece recursos ilimitados para este fin y el uso de productos vegetales en el manejo de plagas representa un método alternativo de protección de cultivos, ocupando un rol predominante en el manejo integrado de plagas (DAS 1995, RODRÍGUEZ 1996).

Las plantas con propiedades insecticidas pueden ser usadas en forma curativa y formar parte de las unidades productivas para garantizar su producción, transformación y comercialización racional. Su aprovechamiento irracional puede poner en peligro la reproducción natural de la especie, como ya viene sucediendo con el barbasco. Por ello, las plantas identificadas y validadas con fines biocidas deben ser multiplicadas e introducidas en los sistemas de producción (GOMERO 2000).

Según GOMERO (2000), en el Perú existen más de 300 especies de plantas inventariadas (entre nativas e importadas), potencialmente útiles para fines de manejo de poblaciones de insectos plaga. De éstas, 186 poseen propiedades insecticidas. VILCAPOMA (2000) menciona que las colecciones botánicas del Herbario de la Universidad Nacional Agraria La Molina, en Lima, Perú, poseen muestras de 229 especies de plantas con propiedades biocidas. Así, Perú tiene una amplia diversidad de recursos botánicos con propiedades contra los insectos, al igual que países como Brasil (MARTÍNEZ 2000).

Se ha llevado a cabo algunas experiencias con varias de aquellas especies, tales como el

barbasco, «melía» (*Melia azadirach* L., Meliaceae), «cardo santo» (*Argemone subfusiformis* Ownbey, Papaveraceae), «marco» (*Ambrosia peruviana* Willd., Asteraceae), «muña» (*Mintostachys* spp., Lamiaceae), «eucalipto» (*Eucalyptus* spp., Myrtaceae), lantana» (*Lantana camara* L., Verbenaceae), «tabaco» (*Nicotiana* spp., Solanaceae), y «nim» (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae), que han demostrado cierta eficiencia en regular poblaciones de insectos plaga (GOMERO 2000).

Los productos naturales extraídos de ciertas plantas, como la rotenona, tienen la ventaja de ser biodegradables y no producir desequilibrio en el ecosistema (GRUBER 1992, IANNAcone & MURRUGARRA 2000 a, b, IANNAcone & REYES 2000, IANNAcone 2002). Se estima que estos biocidas provocan un impacto mínimo sobre la fauna benéfica no destinataria del control químico, son efectivos contra plagas agrícolas y no tienen restricciones toxicológicas. La utilización de extractos botánicos le permite al agricultor reducir costos de producción y obtener cosechas para la exportación sin impregnaciones tóxicas (VALDIVIESO 1991, CASIDA & QUISTAD 1998, LANDIS *et al.* 2000). Sin embargo, el efecto de los pesticidas, entre ellos los botánicos, sobre los organismos no destinatarios del control, es un tópico importante en el MIP (HATTINGH *et al.* 2000).

Porcellio laevis Latreille («chanchito de la humedad»), es un crustáceo isópodo común en áreas urbanas y agrícolas en la costa peruana (IANNAcone *et al.* 2001). Es importante en el ambiente, pues ayuda a recircular los nutrientes y mantener los flujos de energía en el suelo, participando en los ciclos biogeoquímicos (ZIDAR *et al.* 1998).

Moina macrocopa (Sars) («pulga de agua»), es un crustáceo cladóceros común en el ecosistema dulceacuícola del río Rímac, en el departamento de Lima, Perú (IANNAcone & DALE 1999). Es una especie zooplanctónica importante en las cadenas de alimentación epicontinentales (IANNAcone & ALVARIÑO 2000).

La larva de *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae), es conocida en Perú como «lombriz roja de agua dulce» y ha sido utilizada para evaluar metales pesados contaminantes de agua dulce (IANNAcone & DALE 1999). Esta especie también ha permitido determinar la ecotoxicidad de plaguicidas sintéticos como lindano, clorpirifos y temefos (IANNAcone & ALVARIÑO 1998, 2000). ARRASCUE *et al.* (2001) sugieren utilizarla para bioensayos con sedimentos elutriados dulceacuícolas.

Muscidifurax raptorellus Kogan & Legner es una microavispa pteromávida parasitoide, que habita el ambiente aéreo de establos y granjas avícolas en el trópico sudamericano, tanto en localidades urbanas como suburbanas, actuan-

do como controlador biológico de pupas de muscoideos, entre ellos principalmente *Musca domestica* L., *Stomoxys calcitrans* L. y *Haematobia irritans* L. (KOGAN & LEGNER 1970, ANTO-LIN *et al.* 1996, FLOATE & FOX 1999).

Estos cuatro invertebrados, son organismos no destinatarios del control químico, por lo que es necesario determinar si existen secuelas negativas del empleo de la rotenona sobre ellos (VARGAS & UBILLO 2001).

Se ha desarrollado diferentes protocolos de bioensayos para determinar el efecto de los plaguicidas sobre cada tipo de componente biológico (CALOW 1993, VEGA *et al.* 1999, IANNACONE *et al.* 2000, WERNER *et al.* 2000, IANNACONE & ALVARINO 2001). Los parámetros de toxicidad aguda más comúnmente empleados son la Concentración Letal Media (CL_{50}) (en mg o $mg\ l^{-1}$) y la Dosis Letal Media (DL_{50}) (en mg o $mg\ kg^{-1}$). Además, VARGAS & UBILLO (2001) utilizaron, para evaluar plaguicidas sobre enemigos naturales, mayormente microavispas de plagas insectiles agrícolas de hortalizas en Chile, el llamado Tiempo Letal medio (TL_{50}) (en h), que permitió estimar el porcentaje de mortalidad de una concentración o dosis a través del tiempo, principalmente para analizar pesticidas de efecto rápido cuando se dispone de pocos organismos biológicos (THRONE *et al.* 1995). IANNACONE & ALVARINO (2001) evaluaron el efecto del pesticida cartap sobre tres organismos no destinatarios del control químico. Además, cinco especies de diferentes grupos biológicos han sido ensayados para determinar el efecto de dos plaguicidas de suelo, lindano y clorpirifos (IANNACONE *et al.* 2000a, b).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto agudo de la rotenona sobre *P. laevis*, *M. macrocopa*, *C. calligraphus* y *M. raptorellus* y, a partir de estos resultados, analizar el riesgo ambiental del insecticida.

Material y métodos

Los bioensayos con rotenona se realizaron en el Programa Nacional de Control Biológico, Servicio Nacional de Sanidad Agraria (PNCB-SENASA), Vitarte, Lima, Perú durante 2000 y 2001.

Porcellio laevis: Se recolectó 240 hembras adultas en jardines de Pueblo Libre, Lima, Perú, que se trasladaron en recipientes de plástico de 500 ml al laboratorio, donde se colocaron en un recipiente plástico de 35 cm de largo por 16 de ancho y 20 de alto (IANNACONE *et al.* 2001), conteniendo tierra de jardín previamente cernida con una malla de 750 m de aber-

tura. La temperatura ambiental fue de 25 ± 3 °C y la tierra se humedeció cada 4 d con agua destilada de características fisicoquímicas definidas ($pH = 7,2$; dureza = $2,03\ mg\ l^{-1}$; alcalinidad = $8\ mg\ L^{-1}$), durante dos semanas. La alimentación consistió en cascarilla de papa *ad libitum*. Los neonatos de segundo estadio recién eclosionados de las marsupias de hembras oviplenas se aislaron y alimentaron en recipientes de plástico blanco de 250 ml. Los experimentos se iniciaron con juveniles de segundo estadio, de 3 mm de longitud total y < 2 d de nacidos. Los ejemplares se escogieron al azar de los envases de plástico. Diez neonatos de segundo estadio se distribuyeron al azar en cada una de las cuatro repeticiones. Se empleó envases descartables de plástico blanco de 40 ml con 15 g de tierra, 1,5 g de humus de lombriz, y 2,4 ml de agua destilada mezclados homogéneamente con las dosis de rotenona usadas. Cada día se agregó 1 ml de agua destilada. Al realizar las pruebas de ecotoxicidad, se consideró muertos los juveniles que no realizaron ningún tipo de movimiento en 15 s de observación bajo microscopio estereoscópico. Los ensayos se condujeron por cuatuplicado. Las lecturas de los ensayos se realizaron a 3, 6, 12, 24 y 48 h de exposición.

Moina macrocopa: Se recolectó hembras en el Parque N° 26 de la Unidad de Acuicultura del Ministerio de Transportes y Comunicaciones, en Villa El Salvador, Lima, Perú. Se las cultivó en un medio artificial a base de 500 mg de hojuelas de cereal «Cereal leaves»® en 250 ml de agua desionizada, mezclado vigorosamente en un vórtex y filtrado posteriormente con una malla de 60 m, y que luego se completó con 50 ml adicionales de agua, estandarizándolo a $pH\ 7$ (IANNACONE & ALVARINO 2000). La suspensión preparada se refrigeró. Los cultivos masivos se realizaron en envases plásticos de 2 l y los cultivos individuales para la obtención de neonatos en vasos plásticos de 50 ml, siendo alimentados con el medio artificial a 0,2 ml/semana/100ml, a una temperatura de 25 °C, siguiendo las recomendaciones de APHA (1995). Los experimentos se realizaron con cohortes con < 24 h de edad que se extrajeron de hembras partenogénicas oviplenas de los frascos de cultivo individuales. Los neonatos no se alimentaron durante la prueba y se consideraron muertos si no producían ningún latido cardíaco durante 10 s de observación (IANNACONE *et al.* 1999). El agua de dilución usada para cada prueba de toxicidad fue la misma que se empleó en los cultivos (APHA 1995). Para cada prueba se empleó 120 individuos y los ensayos fueron realizados por duplicado. Se condujo el ensayo de toxicidad

aguda estático en oscuridad, con 24 h de exposición a la rotenona.

***Chironomus calligraphus*:** Las masas de huevos se recolectaron en la laguna secundaria de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Carapongo, Servicio de Agua Potable y Alcantarillado de Lima (SEDAPAL). Se alimentaron en un medio con hojuelas de cereal «Cereal leaves»® (IANNACONE & ALVARIÑO 2000). Las larvas recién eclosionadas fueron alimentadas dos veces por semana. Cada experimento se inició con larvas de primer estadio, a menos de 24 h de haber eclosionado. Diez larvas se distribuyeron al azar para cada concentración, en cada una de las cuatro repeticiones. Las larvas no se alimentaron durante los ensayos estáticos, es decir sin renovación de la solución y en oscuridad, para evitar la degradación del plaguicida. Se consideraron muertas aquellas larvas que no efectuaban ningún movimiento al ser pinchadas con un alfiler entomológico, bajo observación con estereoscopio durante 15 s (IANNACONE & ALVARIÑO 1998). Las lecturas se realizaron a las 24 h de exposición.

***Muscidifurax raptorellus*:** Adultos de esta especie fueron obtenidos de una colonia mantenida por tres años en los laboratorios del Programa Nacional de Control Biológico (PNCB), Vitarte, Lima, Perú, criados sobre puparios de *M. domestica* bajo condiciones no controladas de temperatura (25 ± 2 °C) y 12 h de fotoperiodo. Su identificación se hizo con las claves de KOGAN & LEGNER (1970). Los experimentos fueron efectuados con cohortes de adultos de < 96 h de emergidos, alimentados con una solución azucarada de miel al 1 %. Para cada prueba se empleó aleatoriamente 120 machos y hembras. En todos los casos se utilizó viales de vidrio de 4 ml de capacidad tapados con algodón, a los que se agregó 12,5 ml de cada una de las concentraciones acuosas del biocida a pH 6, con la ayuda de una pipeta automática de puntas descartables. El biocida fue esparcido homogéneamente con un hisopo sobre la superficie interna del vial. Una vez que estuvo seco, después de 2 h de aplicado, se colocó cinco microavispa por vial. Los adultos no se alimentaron durante el ensayo y fueron considerados muertos cuando no se posaban sobre las paredes internas del vial, encontrándose en el fondo del recipiente con las patas hacia arriba. El tratamiento control consistió en agua destilada. Se utilizó cuatro repeticiones (1 vial = 1 repetición) por tratamiento, y los ensayos se realizaron por duplicado. Se condujo ensayos de toxicidad aguda estáticos de residuos en oscuridad, a 25 ± 3 °C a las 24, 48 y 72 h de exposición.

Rotenona: El plaguicida empleado fue rotenona (Agrosan® 8 % P) con las siguientes propiedades físico-químicas: solubilidad en agua = $0,2 \text{ mg l}^{-1}$ a 28 °C; punto de ebullición = 210-220 °C; punto de fusión = 165-166 °C; densidad = 1,27 a 28 °C; tiempo de vida media = 3 años en suelos arenosos. Para los bioensayos se convirtió al 1 % en agua destilada (pH = 7,2; conductividad específica = 70 mmhos cm^{-1}), finalmente ajustado a un pH de $6 \pm 0,5$. Se emplearon concentraciones de IA en forma creciente y con un factor de dilución de 0,5 para *P. laevis* y *M. raptorellus*; para *M. macrocopa* y *C. calligraphus* el factor fue 0,2. Para el ensayo definitivo con rotenona en *M. macrocopa* se empleó las siguientes concentraciones de IA: 0,16, 0,8, 4, 20 y 100 mg l⁻¹. Para *P. laevis* se empleó concentraciones de 26,78, 53,56, 107,12, 214,25 y 428,48 mg kg⁻¹. Para *C. calligraphus* fueron de 0,16, 0,8, 4, 20 y 100 mg l⁻¹ y para *M. raptorellus* de 800, 1600 y 3200 mg l⁻¹. La concentración de aplicación para el control de plagas en agricultura fluctúa entre 640 y 960 mg IA l⁻¹.

Diseño experimental y tratamiento estadístico: Las pruebas de toxicidad aguda para *C. calligraphus*, *P. laevis* y *M. macrocopa* se evaluaron en cinco concentraciones nominales con cuatro repeticiones, más el control, en un Diseño de Bloque Completamente Randomizado (DBC) de 6 x 4. Para el caso de *M. raptorellus* se usaron cuatro concentraciones nominales con cuatro repeticiones, más control, en un DBCR de 5 x 4 (NORMAN & STREINER 1996). En todos los casos la eficacia de los tratamientos y las repeticiones se evaluó a través de un Análisis de Variancia (ANDEVA) de dos vías, previa transformación de los datos al arcoseno (porcentaje de mortalidad de los artrópodos/100)^{0.5}. En caso de existir diferencias significativas entre las repeticiones y los tratamientos se realizó la prueba posterior de Tukey (ZAR 1996). Las CL₅₀ y DL₅₀ se calcularon usando el programa computarizado Probit (EPA, Environmental Protection Agency de EUA, versión 1,5). Para *M. raptorellus* se calculó el NOEC (Concentración de Efectos No Observables). El modelo de regresión fue verificado usando el estadístico Chi-cuadrado. Se empleó el ANDEVA para determinar las diferencias en CL₅₀ y DL₅₀ entre los diferentes tiempos de exposición para cada una de las especies empleadas. Para evaluar las diferencias entre los intervalos de las C(D)L₅₀ se usó la técnica de superposición de límites fiducial (APHA 1995). Se empleó el paquete estadístico SPSS, versión 7,5 para Windows 98, para el cálculo de los estadísticos descriptivos e inferenciales. Los datos no transformados se presentaron en las tablas y figuras.

Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA): Se empleó esta técnica para determinar la naturaleza y magnitud de riesgo de la rotenona, usando los escenarios más críticos y de peor exposición. Se empleó *P. laevis* como modelo biológico terrestre, *M. macrocopa* y *C. calligraphus* para determinar el riesgo en organismos acuáticos, y *M. raptorellus* como artrópodo aéreo no destinatario del control químico. Con los resultados de toxicidad aguda (CL_{50} o DL_{50}) a los tiempos de exposición respectivos con estas cuatro especies, y con los niveles de exposición o Concentraciones Ambientales Esperadas predichas (CEE), calculados a partir de la dosis de aplicación media de la rotenona de 800 mg IA l⁻¹, se determinó los Cocientes de Riesgo (RQ). Para el cálculo de la CEE acuática se asumió una profundidad del cuerpo acuático de 30 cm y para la CEE terrestre se asumió una profundidad del suelo de 15 cm y una densidad del mismo de 1,5. Para las medidas de mitigación, se consideró un 0,1 % de depósito de la rotenona a una distancia del cuerpo de agua de 30 m. Estos resultados, se compararon con el nivel crítico de 0,5 propuesto por la EPA para ensayos agudos y de 1 para ensayos subagudos con invertebrados.

Además de emplear el método del cociente, se usó un método de Nivel II, el análisis GENEEC. Este procedimiento permitió el cálculo de la CEE utilizando un modelo matemático, en que incorporó las propiedades físico-químicas del plaguicida rotenona, y que proveyó la CEE a 96 h de exposición. Se usó el paquete estadístico GENEEC versión 1,2 (Environmental Fate and Effects Division/Office of Pesticide Programs, EPA).

Resultados y discusión

La Tabla 1 muestra los valores de toxicidad aguda en términos de DL_{50} en mg IA kg⁻¹ para *P. laevis* y CL_{50} en mg IA l⁻¹ para *M. macrocopa*, *C. calligraphus* y *M. raptorellus*, hasta a 72 h de exposición. Para *P. laevis* se observó diferencias significativas entre 6 y 12 h, y entre 6 y 48 h de exposición. Para *M. macrocopa*, el valor de CL_{50} fue el más tóxico, seguido por *C. calligraphus*, en comparación a las otras especies. Para *M. raptorellus* no se observó diferencias significativas entre tratamientos y entre periodos de exposición. Se obtuvo el siguiente orden de ecotoxicidad decreciente en términos de $C(D)L_{50}$ y NOEC a 24 h de exposición: *M. macrocopa* > *C. calligraphus* > *P. laevis* > *M. raptorellus*. La relación entre las dosis o concentraciones y la mortalidad en los respectivos periodos de exposición se muestra en las figs. 1-4. Para *M. macrocopa* y *C. calligraphus* se observó diferencias en los porcentajes de mortalidad entre el control y las concentraciones ensayadas ($F = 123,97$; $P < 0,001$; χ^2 de la regresión lineal simple = 0,036; $P < 0,05$). Para todos los casos, los análisis estadísticos mostraron que no hubo diferencias significativas entre las cuatro repeticiones ($F = 0,02-1,13$; $P = 0,36-0,99$). La Tabla 2 indica las TL_{50} para *P. laevis* a cinco diferentes dosis. Los índices de toxicidad muestran un efecto levemente tóxico a tóxico. La dosis de 26,78 mg IA kg⁻¹ de suelo fue levemente tóxica, y la de 428,5 mg IA kg⁻¹ tóxica. Las dosis empleadas son menores que el nivel de exposición esperado (Tabla 3).

Para *M. macrocopa* y *C. calligraphus*, una dosis de 100 mg IA l⁻¹ muestra alta toxicidad (fig.

TABLA 1.- Toxicidad aguda (CL_{50}/DL_{50}) y NOEC de la rotenona sobre cuatro organismos.

Especie	Unidad	Tiempo de exposición					
		3h	6h	12h	24h	48h	72h
<i>Porcellio laevis</i> *	mg kg ⁻¹	237,62 a	152,96 a	95,78 ab	59,02 b	39,25 b	-
<i>Moina macrocopa</i> **	mg l ⁻¹	-	-	-	0,02	-	-
<i>Chironomus calligraphus</i> **	mg l ⁻¹	-	-	-	0,26	-	-
<i>Muscidifurax raptorellus</i> ***	mg l ⁻¹	-	-	-	>3 200	> 3 200	>3 200

* en DL_{50}

** en CL_{50}

*** NOEC = Concentración de efectos no observables.

Letras minúsculas en una misma línea horizontal indican que los promedios son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey.

TABLA 2.- Tiempo letal medio (TL₅₀) en h de rotenona sobre *P. laevis*.

mg IA kg ⁻¹	TL ₅₀ en h (95% límites fiduciales)	Índice de toxicidad*
26,78	282,41 (76,95->1 000) a	4
53,56	13,42 (9,87 - 18,64) b	3
107,12	5,14 (2,86 - 7,42) c	3
214,25	4,04 (2,37 - 5,64) c	2
428,5	2,68 (1,29 - 3,99) c	2

*

1 = 0 h < TL 50 < 2 h	altamente tóxico
2 = 2 h < TL 50 < 5 h	tóxico
3 = 5 h < TL 50 < 24 h	moderadamente tóxico
4 = 24 h > TL 50	levemente tóxico

Letras minúsculas en una misma línea vertical indican que los promedios son estadísticamente iguales según la técnica de superposición de los límites fiduciales.

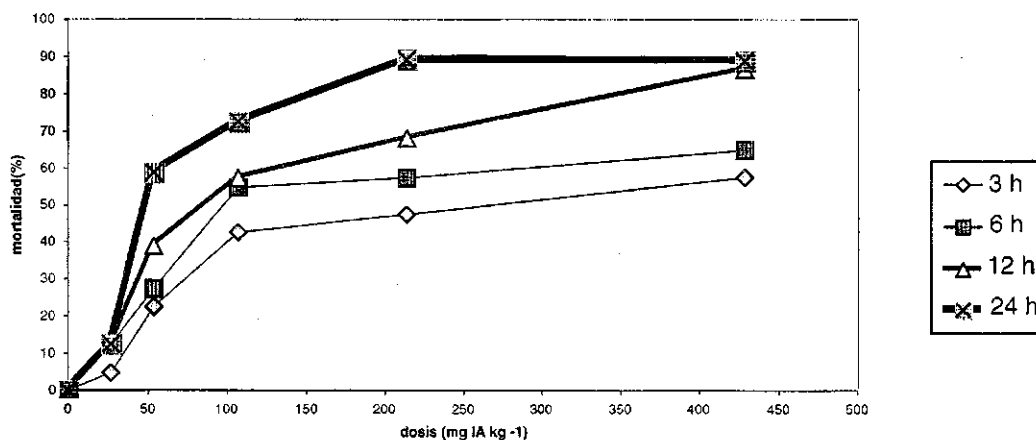
TABLA 3.- Resumen de la Evaluación de Riesgos Ambientales (ERA) en dos artrópodos acuáticos, uno terrestre y uno aéreo expuestos a la rotenona.

Especie	Tipo	Efecto agudo	Toxicidad (24h)	Exposición ¹	RQ ²	LOC ³	Riesgo
<i>Porcellio laevis</i>	terrestre	DL ₅₀ (mg IA kg ⁻¹)	59,02	3 520	59,64	0,5	sí
<i>Moina macrocopa</i>	acuático	CL ₅₀ (mg IA l ⁻¹)	0,02	800	40 000	0,5	sí
<i>Chironomus calligraphus</i>	acuático	CL ₂₀ (mg IA l ⁻¹)	0,26	800	3 076	0,5	sí
<i>Muscidifurax raptorellus</i>	aéreo	NOEC (mg IA l ⁻¹)	>3 2000	2 640	0,825	1	no

¹ CEE (Concentración Efectiva Ambiental)

² Cociente de riesgo (Exposición/Toxicidad)

³ Nivel crítico.

FIGURA 1.- Toxicidad aguda de la rotenona sobre *Porcellio laevis*.

2); en adición, esta dosis es menor que el nivel de exposición en el peor de los escenarios, es decir la aplicación directa en el agua (Tabla 3). Una concentración de 3 200 mg l⁻¹ de rotenona fue atóxica para *M. raptorellus* (Tabla 3).

La Tabla 3 muestra un resumen de la ERA. En ensayos agudos, la rotenona presentó riesgo ambiental para *P. laevis*, pero no mostró efecto ambiental sobre *M. raptorellus*. *M. macrocopa* y *C. calligraphus* mostraron un alto riesgo a nivel acuático, pues el cociente fue muy alto en comparación al nivel crítico. Aún con un depósito de 0,1 %, considerando el cuerpo de agua a una distancia de 30 m del campo agrícola de aplicación, el RQ fue de 40. Cuando se empleó el modelo matemático GENEEC, la CEE a 96 h fue de 0,02 mg l⁻¹, presentando riesgo solo para *M. macrocopa* (RQ = 1).

VAN ANDEL (2000) señala que la rotenona es un isoflavonoide extremadamente tóxico para animales de sangre fría, pero menos activo en aves y mamíferos. Es más tóxico cuando se aplica directamente al agua que al ser ingerido. Debido a su baja toxicidad por ingestión, los organismos acuáticos (entre ellos los peces) afectados por la rotenona, pueden ser ingeridos por los seres humanos sin reacciones adversas. En nuestro estudio, se notó que organismos acuáticos como *M. macrocopa* y *C. calligraphus* fueron altamente sensibles a la acción de la rotenona (Tabla 3) (IANNACONE 2002). La rotenona tiene dos ventajas, los humanos pueden ingerirla con seguridad, y es inestable a la luz y el calor, perdiendo casi toda su toxicidad después de 2-3 días (VAN ANDEL 2000).

RACH *et al.* (1988) indican que otra pulga de agua, *Daphnia magna* Strauss, a 48 h de exposición presentó un valor de CL₅₀ de 0,0037 mg l⁻¹. Nuestros resultados muestran que *M. macrocopa* tuvo menor sensibilidad que *D. magna* (Tabla 1) (CHANDLER & MARKING 1982, BEAL & ANDERSON 1993).

Estudios en adultos y larvas de *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae) y larvas de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), sobre la acción de la rotenona en ensayos de mortalidad por contacto a residuos foliares, aplicaciones tópicas, y ensayos de ingestión de masas de huevos contaminados, mostraron para adultos y larvas de *C. maculata* una alta toxicidad luego de 48 h de exposición, pero *C. carnea* fue afectada mayormente en los ensayos de ingestión. El mismo patrón de alta toxicidad se observó en *Edovum puttleri* Grisell (Hymenoptera: Eulophidae) (OBRYCKI *et al.* 1986, HAMILTON & LASHOMB 1997). Nuestros resultados indican que *M. raptorellus* fue insensible a la acción de la rotenona a las concentraciones evaluadas (Tablas 1, 3).

SCOTT *et al.* (1991) y GEDEN *et al.* (1992), en un ensayo comparativo de insecticidas sobre *Muscidifurax raptor* Girault & Sanders (Hymenoptera: Pteromalidae), una especie afín a *M. raptorellus*, demostraron mayor sensibilidad en comparación con su hospedero, *Musca domestica*. Sin embargo, a concentraciones más altas no hemos observado efectos de mortalidad en *M. raptorellus* (Tablas 1, 3).

Aunque los ensayos crónicos para un pesticida son muy importantes en la evaluación de ERA, DANEA *et al.* (1998) señalan para *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) que la mortalidad aguda es un buen parámetro predictivo y sensible para la determinación de la toxicidad, y por ende de la ERA. Por esta razón, en el presente estudio utilizamos la toxicidad aguda/subaguda y la mortalidad en los cuatro invertebrados como parámetro de lectura final.

Conclusiones

Mediante el método del cociente de la Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA), *Porcellio laevis* mostró riesgo a nivel terrestre para la rotenona. Sin embargo, el análisis complementario de los TL₅₀ indicó solo un efecto levemente tóxico a tóxico. *Muscidifurax raptorellus* mostró ausencia de riesgo a nivel aéreo. *Moina macrocopa* y *Chironomus calligraphus* mostraron alto riesgo ambiental acuático, inclusive al considerar el escenario menos crítico.

El análisis GENEEC, que incorpora los parámetros físico-químicos de la rotenona, indicó efectos solo sobre *M. macrocopa*.

Agradecimientos.- Al personal del Programa Nacional de Control Biológico (PNCB) por el apoyo brindado a la presente investigación. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) por el financiamiento de este trabajo y su presentación en el XXIV Congreso Brasileiro de Zoología, en Itajaí, Santa Catarina, Brazil.

Literatura

- Antolin MF, Guertin DS, Petersen JJ. 1996. The origin of gregarious *Muscidifurax* (Hymenoptera: Pteromalidae) in North America: an analysis using molecular markers. *Biol. Control* 57: 76-82.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Control Federation). 1995. Standard methods for examination of water and wastewater. Ed. 19. Washington DC,

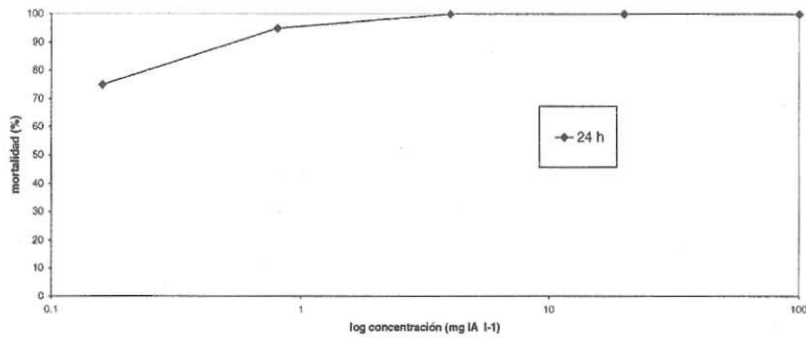


FIGURA 2.- Toxicidad aguda de la rotenona sobre *Moina macrocopa*.

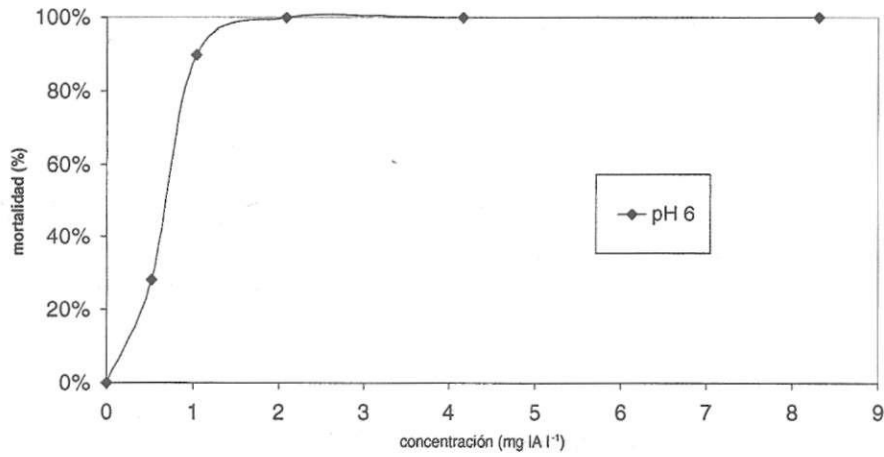


FIGURA 3.- Toxicidad aguda de la rotenona sobre *Chironomus calligraphus*.

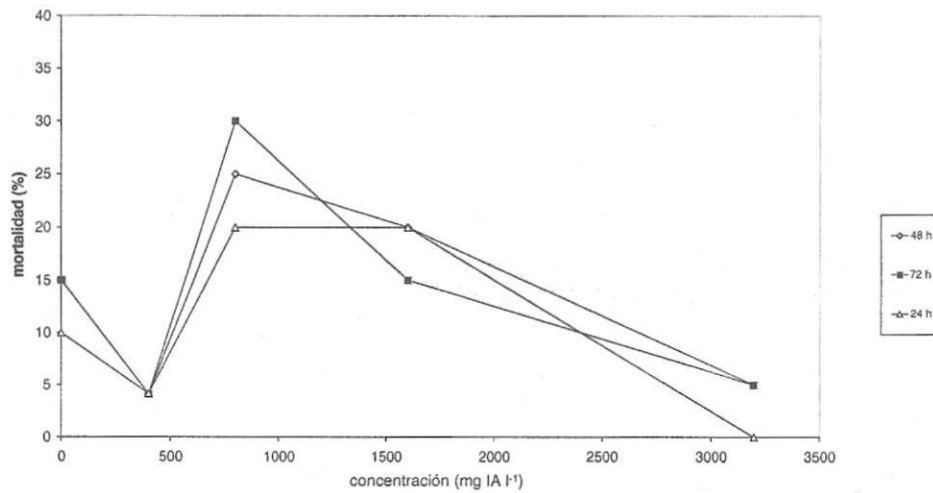


FIGURA 4.- Toxicidad aguda de la rotenona sobre *Muscidifurax raptorellus*.

- American Public Health Association.
- Arning I, Lizárraga A. 1999. Manejo ecológico de plagas. Una propuesta para la agricultura sostenible. Lima, Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos. 174 p.
- Arrascue A, Iannacone JA, Alvariano L, Basilio S, Lazcano C. 2001. El insecto *Chironomus calligraphus* Goeldi y la bacteria *Escherichia coli* como ensayos ecotoxicológicos para evaluar sedimentos elutriados dulceacuícolas. Rev. per. Entom. 42: 159-173.
- Azam KM, Razvi SA. 2000. Efficacy of plant extracts against nymphs of whitethy fly, *Bemisia tabaci* Gennadius, p. 661. Abstracts Book II. Foz do Iguaçu, XXI International Congress of Entomology.
- Beal DL, Anderson RV. 1993. Response of zooplankton to rotenone in a small pond. Bull. environm. Contam. Toxicol. 51: 551-556.
- Calow P. 1993. Handbook of ecotoxicology. Lonsón, Blackwell Science Ltd. Vol. 1. 478 pp.
- Casida JE, Quistad GB. 1998. Golden age of insecticide research: Past, present, or future? Ann. Rev. Entom. 42: 1-16.
- Chandler JH, Marking LL. 1982. Toxicity of rotenone to selected aquatic invertebrates and frog larvae. Frog Fish Culture 44: 78-80.
- Cisneros F. 1992. El Manejo Integrado de Plagas. Guía de Investigación. Lima, Centro Internacional de la Papa. 38 pp.
- Danfa A, Fall B, Van der Valk H. 1998. Acute toxicity tests with *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae), using different locust control insecticides in the Sahel, pp. 117-136. In: Everts JW, Mbaye D, Barry O, Mullié W (Eds.), Environmental side-effects of locust and grasshopper control. Vol. 3. Dakar, FAO Locust-tox Project.
- Das GP. 1995. Plants used in controlling the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*. Crop Prot. 14: 631-636.
- Floate KD, Fox AS. 1999. Indirect effects of ivermectin residues across trophic levels: *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) and *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). Bull. entom. Res. 89: 225-229.
- Geden CJ, Rutz DA, Scott JG, Long SJ. 1992. Susceptibility of house flies (Diptera: Muscidae) and five pupal parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) to abamectin and seven commercial insecticides. J. econ. Entom. 85: 435-440.
- Gomero LO. 2000. Uso de plantas con propiedades repelentes e insecticidas, pp. 13-26. In: Arning I, Velásquez H (Eds.), Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Lima, Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos.
- Gruber AK. 1992. Biología y ecología del árbol del neem (*Azadirachta indica* A. Juss.): extracción, medición, toxicidad y potencial de crear resistencia. Ceiba 33: 249-256.
- Hamilton GC, Lashomb JH. 1997. Effect on insecticides on two predators of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Florida Entom. 80: 10-23.
- Hattingh V, Ware AB, Grout TC, Moore SD. 2000. Non-target effects of pesticides on beneficial insects, p. 654. Abstracts Book II. Foz do Iguaçu, XXI International Congress of Entomology.
- Iannacone JA. 2002. Evaluación de riesgos ambientales de una planta de producción de rotenona en una zona amazónica. Bol. Lima (en prensa).
- Iannacone JA, Alayo M, Abanto M, Sánchez J, Zapata E. 2001. *Porcellio laevis* Latreille, 1804 (Isopoda: Porcellionidae) como bioindicador para evaluación de plomo. Rev. per. Entom. 42: 175-183.
- Iannacone JA, Alvariano L. 1998. Ecotoxicidad aguda del insecticida organofosforado temephos sobre *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae). Acta entom. chil. 22: 53-55.
- . 2000. *Chironomus calligraphus* Goeldi y *Moina macrocopa* (Sars) como herramientas ecotoxicológicas para la evaluación del lindano y clorpirifos. Bol. Soc. Biol. Concepción 71: 33-39.
- . 2001. Evaluación del riesgo ambiental del cartap sobre tres componentes de la biota animal, p. 207. Resúmenes. II Congreso Internacional de Biotecnología. Arequipa.
- Iannacone JA, Alvariano L, Caballero CR, Sánchez J. 2000a. Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos. Gayana 64: 139-146.
- Iannacone JA, Alvariano L, Gutiérrez A. 1999. Cinco ensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados en el agua dulce. Bol. Soc. quim. Perú 65: 30-45.
- Iannacone JA, Caballero CR, Alvariano L. 2000b. El caracol *Physa venustula* Gould como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgos ambientales por plaguicidas de suelo, p. 63. Resúmenes. VII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Arerquipa.
- Iannacone JA, Dale W. 1999. Protocolo de bioensayos ecotoxicológicos para evaluar metales pesados contaminantes de agua dulce con *Chironomus calligraphus* (Diptera: Chironomidae) y *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera), en el río Rimac, Lima, Perú. Rev. per. Entom. 41: 111-120.
- Iannacone JA, Murrugarra Y. 2000a. Fluctuación poblacional del predador *Metacanthus tenuellus* Stal (Heteroptera: Berytidae) por los insecticidas botánicos rotenona y neem en el cultivo de tomate en el Perú. Rev. colomb. Entom. 26: 89-97.

- . 2000b. Dos bioinsecticidas botánicos neem y rotenona para el control de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) y de dos especies de áfidos (Homoptera: Aphididae) en el cultivo de tomate en Ica, Perú, p. 74. Resúmenes. XLII Convención Nacional de Entomología. Tarapoto, Sociedad Entomológica del Perú.
- Iannacone JA, Reyes M. 2000. Efecto de dos extractos botánicos rotenona y neem sobre dos plagas del tomate en el Perú, p. 105. Resúmenes. VIII Congreso Nacional de Botánica. Arequipa, Sociedad Peruana de Botánica.
- Jepson PC. 2000. Pesticides, ecology and IPM: optimizing pesticide use within pest management systems, p. 664. Abstracts Book I. Foz do Iguassu, XXI International Congress of Entomology.
- Kogan M, Legner EF. 1970. A biosystematic revision of the genus *Muscidifurax* (Hymenoptera: Pteromalidae) with description of four new species. *Can. Entom.* 102: 1268-1290.
- Landis DA, Wratten SD, Gurr GM. 2000. Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Ann. Rev. Entom.* 45: 175-201.
- Martínez SS. 2000. The use of botanical insecticides in Brazil, p. 664. Abstracts Book I. Foz do Iguassu, XXI International Congress of Entomology.
- Molina N. 2001. Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Manejo integr. Plagas 59: 76-77.
- Norman GR, Streiner DL. 1996. Bioestadística. Barcelona, Mosby/Dyma Libros. 260 pp.
- Obrycki JJ, Tauber MJ, Tinger WM. 1986. Comparative toxicity of pesticides to *Edovum puttleri* (Hymenoptera: Eulophidae) an egg parasitoid of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. econ. Entom.* 79: 948-951.
- Rach JJ, Bills TD, Marking LL. 1988. Investigation in fish control: 92. Acute and chronic toxicity of rotenone to *Daphnia magna*. Washington DC, Fish and Wildlife Service. 5 pp.
- Risser PG. 2000. An ecologist view of IPM, p. 650. Abstracts Book II. Foz do Iguassu, XXI International Congress of Entomology.
- Rodríguez AMT. 1996. Efectos del molle (*Schinus molle*) y sus extractos en el control de *Phthorimaea operculella* Zell, en almacenes de papa. Tesis de Ingeniero Forestal. Lima, Universidad Nacional Agraria La Molina. 93 pp.
- Scott JC, Geden CJ, Rutz DA, Liu N. 1991. Comparative toxicity of seven insecticides to immature stages of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) and two of its important biological control agents, *Muscidifurax raptor* and *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. econ. Entom.* 84: 776-779.
- Throne JE, Weaver DK, Chew V, Baker JE. 1995. Probit analysis of correlated data: multiple observation over time at one concentration. *Ibid.* 88: 1510-1512.
- Valdivieso L. 1991. Manual de Control Integrado de Plagas Agrícolas. Lima, Centro Internacional de la Papa. 58 pp.
- Van Andel TR. 2000. The diverse uses of fish-poison plants in Northwest Guyana. *Econ. Bot.* 54: 500-512.
- Vargas RM, Ubillo AF. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. *Agri. técn. (Santiago de Chile)* 61: 35-41.
- Vega MM, Urzelai A, Angulo E. 1999. Minimum data required for deriving soil quality criteria from invertebrate ecotoxicity experiments. *Environm. Toxicol. Chem.* 18: 1304-1310.
- Vilcapoma G. 2000. Especies biocidas en el Perú, pp. 27-46. In: Arning I, Velásquez H (Eds.), Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Lima, Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos.
- Werner I, Deanovic L, Connor AV, Vlaming VD, Bailey HC, Hinton DE. 2000. Insecticide-caused toxicity to *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) in the Sacramento-San Joaquin River Delta, California, USA. *Environm. Toxicol. Chem.* 19: 215-227.
- Zar JH. 1996. Biostatistical analysis. Ed. 3. Upper Saddle River, Prentice-Hall, Inc. 662 pp.
- Zidar P, Drobne D, Strus J. 1998. Determination of moult stages of *Porcellio scaber* (Isopoda) for routine use. *Crustaceana* 71: 646-654.