



## Resumen

Los polinizadores son cruciales en el funcionamiento de casi todos los ecosistemas terrestres incluidos los agroecosistemas. Muchos insecticidas son tóxicos para las abejas domésticas en ensayos de ingestión y de contacto. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el impacto de plaguicidas en la abeja melífera *Apis mellifera* (Hym: Apidae). Se emplearon cinco plaguicidas sintéticos, dos formulados (clorpirifos y fention) y tres grado técnico (kresoxim-metil, lufenuron y pendimetalin) sobre la toxicidad letal aguda de contacto y oral a 48 h de exposición siguiendo las guías estandarizadas internacionales. La relación dosis-respuesta fue verificada a través del análisis Probit usando el software Ldpline®. El Cociente de riesgo de contacto y oral ( $Q_H$ ) fue mayor a 50 para la evaluación de riesgo por plaguicidas solo para fention y clorpirifos, lo que indica un alto riesgo en la abeja melífera *A. mellifera*. El kresoxim-metil, lufenuron y pendimetalin no ocasionaron impacto y riesgo a la abeja melífera por presentar valores menores a 50. Se recomienda solo emplear fention y clorpirifos cuando la actividad polinizadora de las abejas sea mínima en un cultivo.

**Palabras claves:** Abeja, *Apis*, clorpirifos, evaluación de riesgos de plaguicidas, fention, insecticida, polinizadores.

## Abstract

Pollinators are critical to the functioning of nearly all terrestrial ecosystems, including agroecosystems. Many insecticides are toxic to honeybees assays by ingestion and by contact. The aim of this study was to evaluate the impact of pesticides on honeybee *Apis mellifera* (Hym: Apidae). Five synthetic pesticides, two formulations (fenthion and chlorpyrifos) and three technical grade (kresoxim-methyl, lufenuron and pendimethalin) on contact and oral lethal acute toxicity at 48 h of exposure were used following the international standardized guidelines. The dose-response relationship was verified through Probit analysis using the Ldpline® software. The hazard ratio for oral contact ( $Q_H$ ) was greater than 50 for pesticide risk assessment only for fenthion and chlorpyrifos, indicating a high risk in the honeybee *A. mellifera*. Kresoxim-methyl, lufenuron and pendimethalin did not cause impact and risk to the honeybee to present values less than 50. It is recommended to use only fenthion and chlorpyrifos when the pollination of bees is minimal in crops.

**Keywords:** Bee, *Apis*, chlorpyrifos, fenthion, insecticide, pesticide risk assessment, pollinators.

## INTRODUCCIÓN

La polinización es el primer paso en el proceso de la reproducción de las plantas, este servicio ecosistémico se lleva a cabo a través de medios abióticos y bióticos siendo este último efectuado principalmente por los insectos (Cavieres *et al.* 1998, Di Trani 2003). Los polinizadores y la polinización son cruciales en el funcionamiento de casi todos los ecosistemas terrestres

incluidos los agroecosistemas (Kevan 1999, Díaz 2001, Vásquez *et al.* 2006). Por otra parte, la polinización entomófila nos permite obtener frutos y semillas para la alimentación del ser humano y de animales domésticos (Iannacone & Alvarino 2009). Por ello, proteger a los insectos polinizadores, entre los cuales se encuentra la abeja doméstica (*Apis mellifera* Linnaeus, 1758), nos garantiza la viabilidad de los recursos agrarios y ganaderos (Porrini *et al.* 2003, Efrom *et al.* 2012).

Dentro de los principales recursos agrarios que presenta el Perú se encuentran los cultivos cítricos ya que es el cuarto productor de cítricos en el hemisferio sur, detrás de Brasil, Sudáfrica y Argentina (Spreen 2001). En muchos de los valles peruanos es el cultivo más importante cuya exportación supera los 90 mill de dólares en el 2015 (MRE 2011). Sin embargo, como todo cultivo de importancia económica siempre existe el problema de las plagas insectiles, en este caso, principalmente tenemos a la hormiga arriera cortadora de hojas *Atta* sp (Hymenoptera: Formicidae) y a la mosca de la fruta *Ceratitidis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) que generan cuantiosas pérdidas económicas a nivel de producción y en compra de insecticidas específicos que causan daño al ecosistema (De Lima *et al.* 2007, Lemus *et al.* 2008, Alonso & García 2009, Barrientos 2009).

El uso de insecticidas para contrarrestar plagas insectiles, y más aún, la aplicación de dos o más ingredientes activos, generalmente en forma simultánea o en forma alternada (Suárez *et al.* 2006; Akca *et al.* 2009) han originado un impacto negativo en el ambiente ocasionando la desaparición gradual de muchos polinizadores insectiles (Devillers *et al.* 2003), ya que estos productos ocasionan mortandad a ciertas dosis letales en organismos no destinatarios como las abejas adultas (Miranda *et al.* 2003; Kamier *et al.* 2003; Bailey *et al.* 2005; Akca *et al.* 2009) e inclusive pueden ser transportados al apiario y contaminar el néctar y polen (Silva-Cruz *et al.* 2009), o a dosis sub-letales pueden ser transferidos a las larvas vía las abejas nodrizas (Iannacone & Alvarino 2009; Zhu *et al.* 2014). Muchos insecticidas son tóxicos para las abejas domésticas (*A. mellifera*) tanto en ensayos de ingestión y de contacto. La toxicidad de los plaguicidas ha sido evaluada en diferentes organismos no destinatarios como las aves, peces e invertebrados siendo declarado en diversos países como pesticidas de gran riesgo ecológico (Badii & Varela 2009; Díaz & Girón 2014).

Dos insecticidas de amplio uso en el manejo de plagas de cítricos son el fenthion y el clorpirifos; el primero, con número de registro CAS 55-38-9, es un insecticida y acaricida organofosforado de moderada toxicidad usado en todo el mundo (Tomlin 1994). Puede causar la inhibición de la colinesterasa en humanos (Brunetto *et al.* 1992) y junto con otros organofosforados ha sido señalado como uno de los principales contaminantes tipo plaguicida

de cuerpos de agua (Borbón & González 2012). Es altamente tóxico en invertebrados marinos y en organismos no destinatarios (De Weese *et al.* 1983, Parsons *et al.* 2010, Muralidharan 2014). Se utiliza como adulticida de mosquitos en ganado, mascotas y plantas ornamentales además de ser un excelente controlador de plagas de granos almacenados (Sarmiento 1973). En el cultivo de cítricos es usado para combatir a la mosca de la fruta *C. capitata*. Para el Perú, este principio activo cuenta con registro vigente por parte del Servicio Nacional de Sanidad Agraria (036-96-AG-SENASA) y es de amplio uso entre los agricultores.

Por otra parte, el clorpirifos, con número de registro CAS 2921-88-2, es un insecticida organofosforado moderadamente tóxico, ampliamente usado para el manejo de gusanos que afectan los cultivos de algodón, maíz, mandarina y plantas ornamentales (ATSDR 1997). Presenta gran capacidad de residualidad ya que se ha reportado su presencia en la miel, propóleos (Zhu *et al.* 2014) y en frutos y hojas de uva (Ahmad 2004). Al igual que el anterior ingrediente activo, puede causar la inhibición de la colinesterasa en humanos (Rauh *et al.* 2011), y en peces causa efecto sobre la respuesta inmune de estos organismos (Ali *et al.* 2009; Eder *et al.* 2009; Díaz & Girón 2014). En nuestro país cuenta con registro vigente por parte del SENASA (408-97-AG-SENASA) ya que es usado en la ganadería, como controlador de garrapatas y en agricultura para el control de la hormiga arriera cortadora de hojas *Atta* sp.

A la fecha, en el Perú no se tiene una base de datos actualizada que evalúe el efecto letal de los plaguicidas (Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin) en polinizadores como *A. mellifera* en el Perú, para su empleo en toxicología, farmacología, medicina y biología. Mediante los resultados obtenidos se realizó una evaluación de riesgos ambientales de estos productos plaguicidas con *A. mellifera* en el ambiente terrestre (Lagarto & Vega 1990, Calow 1993, APHA 1995).

## **OBJETIVOS**

### **General**

Evaluar el impacto de plaguicidas en la abeja melífera *A. mellifera* (Hym: Apidae).

### **Específicos**

Determinar la toxicidad letal de contacto de cinco plaguicidas Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin sobre *A. mellifera*.

Determinar la toxicidad letal oral de cinco plaguicidas Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin sobre *A. mellifera*.

## **HIPÓTESIS**

### **General**

**H<sub>0</sub>**: No existe impacto de plaguicidas en la abeja melífera *A. mellifera* (Hym: Apidae).

**H<sub>a</sub>**: Existe impacto de plaguicidas en la abeja melífera *A. mellifera* (Hym: Apidae).

### Específica 1

**H<sub>0</sub>**: No existe toxicidad letal de contacto de cinco plaguicidas Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin sobre *A. mellifera*.

**H<sub>a</sub>**: Existe toxicidad letal de contacto de cinco plaguicidas Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin sobre *A. mellifera*.

### Específica 2

**H<sub>0</sub>**: No existe toxicidad letal oral de cinco plaguicidas Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin sobre *A. mellifera*.

**H<sub>a</sub>**: Existe toxicidad letal oral de cinco plaguicidas Fention, Clorpirifos, Kresoxim-metil, Lufenuron y Pendimetalin sobre *A. mellifera*.

## **MÉTODOLOGÍA**

Los bioensayos toxicológicos con los plaguicidas sobre *A. mellifera* se realizaron en el Laboratorio de Cordados y de Invertebrados, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma (URP), Distrito de Santiago de Surco, Lima, Perú, en el 2015.

### **Muestras e Instrumentos**

#### **Plaguicidas**

Se emplearon cinco plaguicidas sintéticos, dos formulados y tres grado técnico (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clase química, tipo, uso, CAS, rango de dosis de aplicación y mecanismo de acción de los cinco plaguicidas sintéticos empleados.

Plaguicida	Clase Química	Tipo	Uso	CAS	Dosis de Aplicación (g·ha <sup>-1</sup> )	Mecanismo de acción
Fention 50 %	OF	Formulado	Ins, Aca	55-38-9	60-1200	Inhibidor de la acetilcolinesterasa. Durante la sinapsis el impulso es transmitido por la acetilcolina, la cual es destruida por la colinesterasa, de esta manera la sinapsis puede ser anulada para otra transmisión. Al no destruirse la ACh se produce una hiperactividad nerviosa que finaliza con la muerte del individuo.
Clorpirifos 48 %	OF	Formulado	Ins	2921-88-2	800-3360	Inhibidor de la acetilcolinesterasa. La acetilcolinesterasa se encarga de degradar la acetilcolina (ACh) del medio.
Kresoxim-metil 95% IA	Estrobilurina	Grado Técnico	Fun	143390-89-0	250-400	Inhibe la producción y germinación de las esporas y el crecimiento del micelio del hongo. Esto lo logra a través de la inhibición de la respiración mitocondrial de los hongos a través del bloqueo de la transferencia de electrones entre el mitocondrio b y el citocromo c.
Lufenuron 97,5% IA	Benzoilurea	Grado Técnico	Ins	103055-07-8	25-50	Inhibidor de la síntesis de quitina en insectos.
Pendimetalin 95% IA	Dinitroanilina	Grado Técnico	Her	40487-42-1	450-1700	Interrumpe la división celular (microtúbulos) en meristemas de tallo y raíz al germinar o emerger del suelo.

Ins = Insecticida. Aca = Acaricida. Fun = Fungicida. Her = Herbicida. IA = Ingrediente Activo. OF = Organofosforado.

## Organismos pruebas

### Material biológico

#### *Apis mellifera*

La abeja doméstica (*A. mellifera*) raza híbrida (italiana-carniola) de menos de una semana (nodriza), fue colectada y obtenida del apiario de un apicultor privado del distrito de La Victoria (Lima – Perú).

### Procedimientos

#### Acondicionamiento y bioensayos

Las abejas fueron colocadas en jaulas (35 cm x 10 cm x 20 cm) limpias y ventiladas confeccionadas exteriormente con malla metálica y cubiertas interiormente con malla mosquitera simple de plástico. Los bebederos fueron confeccionados con capilares de vidrio de dos mm de diámetro, conteniendo como alimento una solución de sacarosa al 50% (500 gL<sup>-1</sup>; 50% p/v).

Para los ensayos letales por contacto se siguió las guías de la USEPA-OPPTS (1996). Se realizaron microaplicaciones de 5 µL·abeja<sup>-1</sup> por gota tópica a nivel abdominal en adultos de *A. mellifera* de menos de 1 semana. Los bioensayos se realizaron bajo condiciones de oscuridad. La manipulación de las abejas se realizó colocándolas a una temperatura de 6°C durante 5 min.

Las abejas muertas fueron contadas y removidas cada 24 h y el experimento duró 48 h, (Miranda *et al.* 2003).

Para los ensayos letales orales se siguieron las guías OECD (2001) y se dispuso de 150 µL en tres capilares por unidad de ensayo por un período máximo de 6 h o hasta que consuman el volumen de las dosis a ensayar. Posteriormente se les proporcionó alimento *ad libitum*. Las abejas muertas fueron contadas y removidas cada 24 h y el experimento duró mayormente 48 h. Para los ensayos de ingestión con lufenuron y pendimetalin se continuaron los ensayos hasta 96 h (Miranda *et al.* 2003).

### **Diseño Experimental**

Cinco a seis dosis.

#### **Ensayo por contacto:**

Fention: 0,018; 0,053; 0,16; 0,48 y 1,44 µg de ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h y 48 h).

Clorpirifos: 0,012; 0,037; 0,11; 0,33 y 0,99 µg de ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h y 48 h).

Kresoxim-metil: 3,69; 7,37; 14,74; 29,48 y 58,96 µg de ia·abeja<sup>-1</sup>. (48 h).

Lufenuron: 50,5; 101; 202; 404 y 808 µg de ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h y 48 h).

Pendimetalin: 26,32; 52,63; 105,26; 210,52 y 421,1 µg de ia·abeja<sup>-1</sup>. (48 h).

#### **Ensayo oral:**

Fention: 0,03; 0,1; 0,30; 0,9 y 2,7 µg de ug de ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h y 48 h).

Clorpirifos: 0,013; 0,04; 0,12; 0,36 y 1,08 µg de ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h y 48 h).

Kresoxim-metil: 3,69; 7,37; 14,74; 29,48; 58,96 y 117,92 µg ia·abeja<sup>-1</sup>. (48 h).

Lufenuron: 50,5; 101; 202; 404 y 808 µg ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h, 48 h, 72 h y 96 h).

Pendimetalin: 26,1; 53,1; 106,2; 212,4 y 424,4 µg ia·abeja<sup>-1</sup>. (24 h, 48 h, 72 h y 96 h).

Se utilizó un control solución (solo agua embotellada) y cuatro replicas por dosis conteniendo 10 abejas por jaula para los plaguicidas, respectivamente. Las diluciones de los plaguicidas calculados usaron mayormente un factor de 0,5. El agua de dilución empleada para todos los casos fue agua embotellada (Cielo®). En todos los ensayos, se llevó a cabo un Diseño en Bloques Completamente Randomizado (DBCR) con seis-siete tratamientos (dosis). La relación dosis-respuesta fue verificada a través del análisis Probit usando el software Ldpline (Zar 1996). Los resultados fueron expresados en porcentajes de mortalidad y cuando existieron valores diferentes a cero en el control fueron ajustados con la fórmula de Schneider-Orelli. Para los ensayos se indicaron algunas observaciones de signos de intoxicación y conductas anormales (USEPA-OPPTS 1996). El paquete estadístico utilizado fue ®IBM SPSS v.20 y se empleó un nivel de significancia  $\alpha=0,05$  (Zar 1996).

## Evaluación del riesgo ecológico en abejas

Con el fin de establecer el nivel de riesgo de las abejas a los cinco plaguicidas, se empleó la técnica determinista del cociente de riesgo (Q). Se determinó el cociente de riesgo para el efecto por ingestión ( $Q_{HO}$ ) y el cociente de riesgo para el efecto por contacto ( $Q_{HC}$ ), los que se calcularon dividiendo la máxima dosis de aplicación en  $g \cdot ha^{-1}$  para entre la  $DL_{50}$  oral y  $DL_{50}$  por contacto en  $\mu g \cdot abeja^{-1}$  a 48 h de exposición, tomando en consideración los valores absolutos, es decir no se tomaron en cuenta las unidades. Si el  $Q_H$  es menor a 50 se puede asumir que no existe riesgo práctico para las abejas, por lo contrario, si el  $Q_H$  es mayor a 50 entonces se recomienda realizar estudios de campo e incluir un mayor número de variables en el análisis.

## RESULTADOS

### FENTION

#### Toxicidad por contacto

La Tabla 2 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera*, los valores de  $DL_{50}$  y sus límites de confianza obtenidos por acción de cinco concentraciones en orden creciente del Fention empleadas a 24 h y 48 h de exposición.

**Tabla 2.** Efecto letal de contacto del fention sobre la mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* a 24 h y 48 h de exposición.

Dosis $\mu g \cdot abeja^{-1}$	Mortalidad	
	24h %	48h %
0	0	0
0,018	40	53,3
0,053	50	63,3
0,16	66,7	86,7
0,48	86,7	96,7
1,44	93,3	100
$DL_{50}$	0,04	0,01
Límites de confianza inferior	0,01	0,00
Límites de confianza superior	0,07	0,02

#### Toxicidad oral

La tabla 3 nos indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del fention empleadas a 24 h y 48 h de exposición.

**Tabla 3.** Efecto letal por ingestión del fention sobre la mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* a 24 h y 48 h de exposición.

Dosis ug ia·abeja <sup>-1</sup>	Mortalidad	
	24h %	48h %
0	0	0
0,03	33,3	43,3
0,10	46,7	60
0,30	50	86,7
0,90	73,3	93,3
2,70	83,3	100
DL <sub>50</sub>	0,15	0,04
Límites de confianza inferior	0,05	0,02
Límites de confianza superior	0,29	0,07

## CLORPIRIFOS

### Toxicidad por contacto

La tabla 4 nos indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del clorpirifos empleadas a 24 h y 48 h de exposición.

**Tabla 4.** Efecto letal de contacto del clorpirifos sobre la mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* a 24 h y 48 h de exposición.

Dosis ug ia·abeja <sup>-1</sup>	Mortalidad	
	24h %	48h %
0	0	0
0,012	43,9	38,1
0,037	55,9	52,4
0,11	67,9	90,4
0,33	79,9	100
0,99	88	100
DL <sub>50</sub>	0,02	0,02
Límites de confianza inferior	0,01	0,008
Límites de confianza superior	0,03	0,04

### Toxicidad oral

La tabla 5 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del clorpirifos empleadas a 24 h y 48 h de exposición.

**Tabla 5.** Efecto letal por ingestión del clorpirifos sobre la mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* a 24 h y 48 h de exposición. ND = No determinado.

Dosis ug ia·abeja <sup>-1</sup>	Mortalidad	
	24h %	48h %
0	0	0
0,013	57,1	71,34
0,04	66,68	80,94
0,12	71,40	90,40
0,36	80,98	100
1,08	90,42	100
DL <sub>50</sub>	0,007	0,005
Límites de confianza inferior	0,001	0,002
Límites de confianza superior	0,021	0,008

## KRESOXIM-METIL

### Toxicidad por contacto

La tabla 6 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del kresoxim-metil empleadas a 48 h de exposición.

**Tabla 6.** Efecto letal por contacto del kresoxim-metil sobre la mortandad de nodrizas de *A. mellifera* a 48 h de exposición.

Dosis ug ia·abeja <sup>-1</sup>	Mortalidad
	48h %
0	0
3,69	7,14
7,37	14,28
14,74	18,57
29,48	29,42
58,96	55,28
DL <sub>50</sub>	59,2
Límites de confianza inferior	43,7
Límites de confianza superior	92,8

### Toxicidad oral

La tabla 7 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del kresoxim-metil empleadas a 48 h de exposición.

**Tabla 7.** Efecto letal por ingestión del kresoxim-metil sobre la mortandad de nodrizas de *A. mellifera* a 48 h de exposición.

ug ia·abeja <sup>-1</sup>	48h
	%
0	0
3,69	0
7,37	4,28
14,74	8,37
29,48	14,28
58,96	18,57
117,92	52,27
DL <sub>50</sub>	139,2
Límites de confianza inferior	105,1
Límites de confianza superior	206,7

## LUFENURON

### Toxicidad por contacto

La tabla 8 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del lufenuron empleadas a 24 h y 48 h de exposición.

**Tabla 8.** Efecto letal por contacto del lufenuron sobre la mortandad de nodrizas de *A. mellifera* a 48 h de exposición.

Dosis ug ia·abeja <sup>-1</sup>	Mortalidad	
	24h %	48h %
0	0	0
50,5	0	0
101	0	9,42
202	3,33	15,1
404	3,33	24,3
808	6,67	56,40
DL <sub>50</sub>	ND	744,3
Límites de confianza inferior	ND	600,7
Límites de confianza superior	ND	999,7

### Toxicidad oral

La tabla 9 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del lufenuron empleadas a 24 h y 48 h de exposición.

**Tabla 9.** Efecto letal por ingestión del lufenuron sobre la mortandad de nodrizas de *A. mellifera* a 24 h hasta 96 de exposición.

ug ia·abeja <sup>-1</sup>	%		%	
	24h	% 48h	72h	96h
0	0	0	0	0
50,5	0	2,5	0	0
101	0	7,7	27,6	45,7
202	17,6	28,2	38,8	49,8
404	23,5	48,7	50	76,7
808	23,5	89,7	100	100
DL <sub>50</sub>	ND	341,3	254,8	172,2
Límites de confianza inferior	ND	302,8	52,56	16,2
Límites de confianza superior	ND	387,79	>1000	302

## PENDIMETALIN

### Toxicidad por contacto

La tabla 10 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del pendimetalin empleadas a 48 h de exposición.

**Tabla 10.** Efecto letal por contacto del pendimetalin sobre la mortandad de nodrizas de *A. mellifera* a 48 h de exposición.

ug ia·abeja <sup>-1</sup>	48h
	%
0	0
26,32	4,28
52,63	18,57
105,26	25,71
210,52	35,22
421,1	55,76
DL <sub>50</sub>	344,2
Límites de confianza inferior	263,6
Límites de confianza superior	501,2

### Toxicidad oral

La tabla 11 indica los porcentajes de mortalidad de nodrizas de *A. mellifera* obtenidos por acción de las cinco concentraciones en orden creciente del Pendimetalin empleadas a 48 h de exposición.

**Tabla 11.** Efecto por ingestión del pendimetalin sobre la mortandad de nodrizas de *A. mellifera* a 24 h hasta 96 de exposición.

ug i.a.·abeja <sup>-1</sup>	% 24h	% 48h	% 72h	% 96h
0	0	0	0	0
26,1	0	0	0	0
53,1	0	13,6	19,4	24,4
106,2	0	18,2	32,7	37,7
212,4	12,4	23,7	37,7	45,9
424,4	23,7	57,2	66,6	66,6
DL <sub>50</sub>	ND	390,6	245,8	211,2
Límites de confianza inferior	ND	203,9	136,7	110,9
Límites de confianza superior	ND	>1000	1004	988,8

Se observó la siguiente secuencia decreciente de toxicidad en DL<sub>50</sub> a 48 h de exposición: clorpirifos-oral (0,007 µg ia·abeja<sup>-1</sup>) >fention-contacto (0,01 µg ia·abeja<sup>-1</sup>) >fention-oral (0,04 µg ia·abeja<sup>-1</sup>) > clorpirifos-contacto (0,02 µg ia·abeja<sup>-1</sup>). Se observaron casos de letargo, ataxia, temblores y diarrea desde las concentraciones más bajas en los plaguicidas Fention y clorpirifos desde las 24 h de exposición.

### Evaluación del riesgo ecológico en abejas

Se determinó el cociente de riesgo para el efecto por ingestión (Q<sub>HO</sub>) y el cociente de riesgo para el efecto por contacto (Q<sub>HC</sub>) (Tabla 12).

**Tabla 12.** Evaluación del riesgo ecológico en abejas por acción de cinco plaguicidas. Valores de Q<sub>HC</sub> y Q<sub>HO</sub> mayores a 50 indican riesgo para la abeja.

Plaguicida	Dosis máxima de aplicación (g·ha <sup>-1</sup> )	DLC <sub>50-48h</sub> (µg ia·abeja <sup>-1</sup> )	Q <sub>HC</sub>	Riesgo	DLO <sub>50-48h</sub> (µg ia·abeja <sup>-1</sup> )	Q <sub>HO</sub>	Riesgo
Fention	1200	0,01	120000	si	0,04	30000	si
Clorpirifos	3360	0,005	672000	si	0,02	168000	si
Kresoxim-metil	400	59,2	6,75	no	139,2	2,87	no
Lufenuron	50	744,3	0,06	no	341,3	0,14	no
Pendimetalin	1700	344,2	4,93	no	390,6	4,35	no

El Q<sub>H</sub> fue mayor a 50 solo para fention y clorpirifos lo que indica un alto riesgo en la abeja melífera *A. mellifera*. El kresoxim-metil, lufenuron y pendimetalin no ocasionaron impacto y riesgo a la abeja melífera (Tabla 12).

### DISCUSIÓN

Dos insecticidas evaluados fueron tóxicos para las abejas domésticas (*A. mellifera*) tanto en ensayos de ingestión y de contacto. La toxicidad del fention y clorpirifos ha sido evaluada en diferentes organismos no destinatarios como las aves, peces e invertebrados siendo declarado en diversos países como pesticidas de gran riesgo ecológico (Badii & Varela 2008; Díaz & Girón 2014).

En nuestro estudio se registró, en algunos casos, muerte en el control que no sobrepasó el 30% del total de abejas correspondiente a dicho grupo, pero que fue ajustada con la fórmula de Abbott. Estas muertes son atribuidas al método experimental empleado debido a que dichos organismos fueron sometidos a la anestesia con CO<sub>2</sub> después de haber sido retirados de su colmena lo que les pudo haber ocasionado cierto grado de estrés que se vio reflejado en el cambio de consistencia de las heces (disentería) ocasionando su muerte prematura a pesar de ser sometidos a los parámetros ambientales de temperatura, humedad relativa y oscuridad establecidos (USEPA-OPPTS 1996; OECD 2001).

Efrom (2012) reportó una mayor toxicidad para el fenthion cuando fue ingerido por las abejas, caso contrario ocurre en este estudio donde el ensayo por contacto para dicho ingrediente activo generó una mayor toxicidad. Chamara *et al.* (2011) clasificó a este tóxico como inocuo para *Apis cerana* en donde la exposición al tóxico fue realizado a través de los vapores emanados por dicho compuesto. Por otra parte, la Summerfruit Australia Limited (SAL 2014) recomienda una aplicación de 619 g/ha para reducir significativamente los riesgos al ambiente, valor que se encuentra por debajo a la máxima dosis de aplicación en la agricultura peruana.

Para el clorpirifos se registró daño neuro-oxidativo en abejas (Rehman *et al.* 2012), también se reportó espasmos abdominales y alta frecuencia de acicalamiento de cabeza y aseo corporal (Williamson *et al.* 2013) actividades realizadas para tratar de eliminar el tóxico presente en su cuerpo. Por otra parte, Rahman *et al.* (2012) mencionan una concentración de 59 ng de ingrediente activo por abeja para este tóxico a través de un ensayo por contacto valor que se encuentra por debajo a lo reportado por TCFO (1997), que indica un valor DL<sub>50</sub> a 48h igual a 0.11 µg de ingrediente activo por abeja, y en este trabajo se obtuvo un valor de DL<sub>50</sub> igual a 0,02 µg.

Por lo obtenido en nuestros resultados recomendamos la aplicación del fenthion y/o del clorpirifos para el control de la hormiga arriera cortadora de hojas *Atta spp.* y de la mosca de la fruta *C. capitata*, cuando la actividad polinizadora de las abejas se mínima (Akca *et al.* 2009) o en caso contrario utilizar prácticas del manejo integrado de plagas con mayor énfasis en el control biológico y cultural ya que son amigables con la fauna benéfica y el medio ambiente (Lizárraga 1996; Lemus *et al.* 2008; Alonso & García 2009).

## REFERENCIAS

- AHMAD, S. 2004. *Detection of chlorpyrifos and penconazole residues in Grape leaves and fruit by Gas Chromatography / Mass Spectrometry*. Tesis, Magister en Ciencias del Medio Ambiente. Facultad de Estudios de Postgrado. Universidad Nacional de An-Najah. 46 p.
- AKCA, I.; TUNCER, C.; GULER, A. & SARUHAM, I. 2009. Relative toxicity of some insecticides to *Apis mellifera* L. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 6: 235-237.
- ALI, D.; NAGPURE, S.; KUMAR, S.; KUMAR, R.; KUSHWAHA, B. & LAKRA, S. 2009. Assessment of genotoxic and mutagenic effects of chlorpyrifos in freshwater fish *Channapunctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 650-656.
- ALONSO, A. & GARCÍA, F. 2009. Factores que influyen en la eficacia del trampeo masivo para el control de la mosca de la fruta *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 35: 401-418.
- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION), AWWA (AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION), WPCF (WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION). 1995. *Standard methods for examination of water and wastewater*. 19<sup>th</sup>. Ed. American Health Association. Washington, D.C.
- ATSDR. 1997. *Agency for Toxic Substances & Disease Registry*. En: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp84.html>.
- BADII, M. & VARELA, S. 2009. Insecticidas organofosforados: Efecto sobre la salud y el ambiente. *Culcyt– Toxicología de insecticidas*, 28: 5-17.
- BAILEY, J.; SCOTT-DUPREE, C.; HARRIS, R.; TOLMAN, J. & HARRIS, B. 2005. Contact and oral to honey bees (*Apis mellifera*) of agents registered for use for sweet corn insect control in Ontario, Canada. *Apidologie*, 36: 623-633.
- BARRIENTOS, C. 2009. *Reconocimiento y manejo de las plagas y enfermedades de mayor importancia económica en los cítricos de la hacienda La Cristalina en el municipio de Támesis*. Trabajo de Grado para optar el título de Administrador de Empresas Agropecuarias. Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias. Corporación Universitaria Lasallista. 61 p.
- BORBÓN, J. & GONZÁLEZ, J. 2012. Exposición aguda a fentión en juveniles de cachama blanca (*Pioroctusbrachypomus*): efectos tóxicos, cambios en actividad colinesterasa y uso potencial en monitoreo ambiental. *Revista Ciencias de la Salud*, 10: 43-51.
- BRUNETTO, M.; BURGUERA, J.; BURGUERA, M.; VILLEGAS, F. & BASTIDAS, C. 1992. Observation on a human intentional poisoning case by the organophosphorus insecticide fenthion. *Investigación Clínica*, 33: 89-94.

- CAVIERES, L.; PEÑALOZA, A. & ARROYO, M. 1998. Efectos del tamaño floral y densidad de flores en la visita de insectos polinizadores en *Alstroemeria pallida* Graham (Amaryllidaceae). *Gayana Botánica*, 55: 1-10.
- CHAMARA, H.; MOHOTTI, K. & AHANGAMA, D. 2011. *Toxic Effects of Selected Insecticides on Honey Bees and Earthworms*. Proceedings of the Peradeniya University Research Sessions, 16: 175.
- DE LIMA, C.; JESSUP, A.; CRUICKSHANK, L.; WALSH, C. & MANSFIELD, E. 2007. Cold disinfestation of citrus (*Citrus* spp.) for Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) and Queensland fruit fly (*Bactrocera tryoni*) (Diptera: Tephritidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35: 39-50.
- DEVILLERS, J.; PHAM-DELENGUE, H.; DECOURTYE, A.; BUDZINSKY, H.; CLUZEAU, S. & MAURIN, G. 2003. Modeling the acute toxicity of pesticides to *Apis mellifera*. *Bulletin of Insectology*, 56: 103-109.
- DEWEESE, R.; MCEWEN C.; SETTIMI, A. & DEBUNGERJ, D. 1983. Effects on birds of fenthion aerial application for mosquito control. *Journal of Economic Entomology*, 76: 906-911.
- DÍAZ, I. 2001. Los insectos polinizadores y sus perspectivas de utilización en agroecosistemas. *Fitosanidad*, 5: 49-62.
- DÍAZ, G. & GIRÓN, I. 2014. Efecto de clorpirifos sobre la respuesta inmune de *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*). *Revista Bio Ciencias*, 3: 59-64.
- DI TRANI, J. 2003. Abejas (Hymenoptera: Apoidea) polinizadoras en cultivos de melón del distrito de San Lorenzo, Chiriquí. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias en Entomología General. Universidad de Panamá. 119 pp.
- EDER, K.; LEUTENEGGER, C.; KOHLER, H. & WERNER, I. 2009. Effects of neurotoxic insecticides on heat-shock proteins and cytokine transcription in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 82-90.
- EFROM, C.; RODRIGUES, L.; NARCISO, R. & BERNARDES, C. 2012. Side-effects of pesticides used in the organic system of production on *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55: 47-53.
- USEPA-OPPTS. 1996. Ecological effects Test Guidelines. OPPTS 850.3120. Honey Bee acute contact toxicity. United States Environmental Protection Agency. 8p.
- IANNACONE, J. & ALVARIÑO, L. 2009. Impacto del Fipronil y del Cartap en abejas. *Scientia (Lima)*, 11: 173-182.
- KAMIER, F.; TITERA, D.; PISKULOVÁ, J.; HAJŠLOVA, J. & MASTOVSKÁ, K. 2003. Intoxication of honeybees on chemical treated winter rape: problem of its verification. *Bulletin of Insectology*, 56: 125-127.
- KEVAN, G. 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 373-393.

- LAGARTO, A.; VEGA, R. 1990. *Manual de ensayos de toxicología alternativa*. CIDEM. Cuba.
- LEMUS, Y.; RODRÍGUEZ, G.; CUERVO, R.; DURÁN, J.; ZULUAGA, L. & RODRÍGUEZ, G. 2008. Determinación de la factibilidad del hongo *Metarhizium anisopliae* para ser usado como control biológico de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*). *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 6: 91-98.
- LIZÁRRAGA, A. 1996. Método para controlar “hormigas cortadoras de hoja” *Atta spp.* en fincas productoras de “cacao ecológico”. *Revista Peruana de Entomología*, 39: 97-98.
- Ministerio de Relaciones Exteriores. 2011. Perfil de mercado de mandarinas en Estados Unidos. Oficina de Promoción Comercial e Inversiones del Perú. Los Ángeles. 41 p.
- MIRANDA, E.; NAVICKIENE, D.; NOGUEIRA-COUTO, H.; DE BORTOLI, A.; KATO, J.; BOLZANI, S. & FURLAN, M. 2003. Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pelltitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Apidologie*, 34: 409-415.
- MURALIDHARAN, L. 2014. Chronic toxicity studies on proximate composition of *Cyprinus carpio* exposed to fenthion. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 1: 121-127.
- OECD. 2001. 2001/59/ (O.J.L225 2001). *DirHoneyBees - Acute Oral Toxicity Test*. 5p.
- PARSONS, K.; MINEAU, P. & RENFREW, R. 2010. Effects of Pesticide use in Rice Fields on Birds. *Waterbirds*, 33: 193-218.
- PORRINI, C.; SABATINI, G.; GIROTTI, S.; FINI, F.; MONACO, L.; CELLI, G.; BORTOLOTTI, L. & GHINI, S. 2003. The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators. *Bulletin of Insectology*, 56: 147-152.
- RAUH, V.; ARUNAJADAI, S.; HORTON, M.; PERERA, F.; HOEPNER, L.; BARR, D. & WHYATT, R. 2011. Seven-Year Neurodevelopmental Scores and Prenatal Exposure to Chlorpyrifos, a Common Agricultural Pesticide. *Environmental Health Perspective*, 119: 1196-1201.
- RAHMAN, M.; WEBER, R.; TENNEKES, H. & SÁNCHEZ-BAYO, F. 2012. Substitutes of persistent organic pollutant (POP) pesticides in Bangladesh and the need for a sustainable substitution process. *Organohalogen Compounds*, 74: 1178-1181.
- REHMAN, S.; REHMAN, S. & WALIULLAH, M. 2012. Chlorpyrifos induced neuro-oxidative damage in bee. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 4: 30-36.
- SUMMERFRUIT AUSTRALIA LIMITED (SAL). 2014. *Fenthion: Preliminary Review Findings*. Part 2.8 p.
- SARMIENTO, J. 1973. Efecto de insecticidas en polvo, mezclados con el grano como protectores de maíz almacenado contra *Sitophilus oryzae* L. *Revista Peruana de Entomología*, 16: 123-124.

- SILVA-CRUZ, A.; SILVA-ZACARÍN, M.; BUENO, C. & MALASPINA, O. 2009. Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae. *Cell Biology and Toxicology*, 26: 76-165.
- SPREEN, T. 2001. *Proyecciones de la producción y consumo mundial de los cítricos para el 2010*. Simposio sobre Cítricos FAO. China. 8 p.
- SUÁREZ, H.; CASTELLI, E.; AGUIRRE, H.; ALCARAZ, E.; CAFRUNE, M.; CETRÁ, B.; FADER, W.; LUCIANI, A.; MANGOLD, J.; MEDUS, D. & GUGLIELMONE, A. 2006. El uso de insecticidas para el control de *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) en la Argentina. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 35: 21-35.
- T.CFO.054. 1997. Technical Acute Toxicity to honeybee (*Apis mellifera*). 47 p.
- TOMLIN, C. 1994. *The pesticide manual. Crop Protection Publications*. Gran Bretaña. 1341 p.
- VÁSQUEZ, R.; BALLESTEROS, H.; ORTEGÓN, Y. & CASTRO, U. 2006. Polinización dirigida con *Apis mellifera* en un cultivo comercial de fresa (*Fragaria chiloensis*). *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 7: 50-53.
- WILLIAMSON, M.; MOFFAT, C.; GOMERSALL, M.; SARANZEWA, N.; CONNOLLY, C. & WRIGHT, G. 2013 Exposure to acetylcholinesterase inhibitors alters the physiology and motor function of honeybees. *Frontiers in Physiology*, 4: 1-10.
- ZAR, J. 1996. *Biostatistical Analysis*. Ed. Prentice-Hall. Inc. Upper Saddle River. New Jersey. 662 p.
- ZHU, W.; SCHMEHL, D.; MULLIN, C. & FRAZIER, J. 2014. Four common pesticides, their mixture and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae. *Public Library of Science*, 9: 1-11.