



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
División Académica de Ciencias Biológicas  
“Estudio en la duda. Acción en la fe”



---

---

**“EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO”**

**Trabajo recepcional, en la modalidad de:**

Tesis

**Para obtener el título en:**

Licenciatura en Ingeniería Ambiental

**Presenta:**

Diana Raquel Vázquez Rubio

**Directores:**

M. en C. Juan Carlos Chacón Espinoza  
M. en C. Ernesto Rodríguez Rodríguez

Villahermosa, Tabasco, México

Julio, 2023



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 30 de Junio de 2023

**ASUNTO:** Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON  
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES  
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. DIANA RAQUEL VÁZQUEZ RUBIO** egresada de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (Theobroma cacao L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (Hyaella azteca S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

**A T E N T A M E N T E**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**DIRECCIÓN**

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica  
C.c.p.- Interesado



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

JUNIO 30 DE 2023

**C. DIANA RAQUEL VÁZQUEZ RUBIO**  
**PAS. DE LA LIC. EN ING. AMBIENTAL**  
**P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO"**, asesorado por el M. en C. Juan Carlos Chacón Espinoza y M. en C. Ernesto Rodríguez Rodríguez sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la Dra. Rocío López Vidal, M. en C. Melvi Rocío Santos Márquez, M. en C. Ernesto Rodríguez Rodríguez, Dr. Mario José Romellón Cerino y Dra. Nelly del Carmen Jiménez Pérez.

**A T E N T A M E N T E**  
**ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

  
**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR**

C.c.p.- Expediente del Alumno.  
Archivo.

U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

## CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **“EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 30 de Junio de Dos Mil Veintitrés.

**AUTORIZO**



---

**DIANA RAQUEL VÁZQUEZ RUBIO**



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**División Académica de  
Ciencias Biológicas**



Villahermosa, Tabasco a 14 de junio de 2023

**Diana Raquel Vázquez Rubio**  
Est. Lic. en Ingeniería Ambiental  
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad y por instrucciones de la Coordinación de Estudios Terminales, se implementó la revisión del documento recepcional (Tesis), a través del programa iThenticate a:

<b>TIPO DE DOCUMENTO</b>	<b>TESIS</b>
<b>TÍTULO</b>	<b>EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (<i>Hyaella azteca</i> S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.</b>
<b>AUTOR</b>	<b>Diana Raquel Vázquez Rubio</b>

Criterios de Evaluación de similitud:

- Incluir citas
- Excluir Bibliografía
- Excluir fuentes pequeñas (o palabras)
- Limitar el tamaño de la coincidencia a 13 palabras

<b>RESULTADO DE SIMILITUD</b>	<b>4 %</b>
	13758 palabras, 22 coincidencias y 13 fuentes

Se anexa informe de similitud de la evaluación.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**  
**"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"**

**M. EN C. MÓRVILA CRUZ ASCENCIO**  
**COORDINACIÓN DE ESTUDIOS TERMINALES**

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA

Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: dirección.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua ayuda a conservar los bosques



## ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIOS .....	5
1. INTRODUCCIÓN .....	6
2. JUSTIFICACIÓN .....	10
3. ANTECEDENTES .....	11
3.1 El cacao como especie de importancia agrícola.....	11
3.1.2. El cultivo de cacao en Tabasco .....	12
3.2. La especie <i>Hyalella azteca</i> y los bioensayos toxicológicos .....	16
3.3. Investigación sobre agroquímicos en Tabasco .....	20
3.3.1. Propiedades Toxicológicas de Clorpirifos Etil .....	20
4. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	23
5. OBJETIVOS.....	25
5.1. Objetivo General .....	25
5.2. Objetivos Específicos.....	25
6. MATERIALES Y METODOS.....	26
6.1. Sistograma Metodológico.....	26
6.2. Actividades de campo .....	27
6.2. 1. Material de campo.....	27
6.3. Actividades de Laboratorio .....	29
6.4. Actividades de gabinete .....	40
7. RESULTADOS.....	43
8. DISCUSIÓN .....	52
9. CONCLUSIÓN .....	53
10. RECOMENDACIONES .....	54
11. LITERATURA CITADA .....	56
12. ANEXOS .....	62
ANEXO 1. AGROQUÍMICOS DE CULTIVOS PERENNES DE TABASCO CICLOPLAFEST (1991). .....	62
ANEXO 2. AGROQUÍMICOS DE CULTIVOS PERENNES EN TABASCO PROPUESTO POR EL ING. MOISÉS RAMOS ALARCÓN (2023).....	66



## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Producción anual del cacao en el estado de Tabasco. 2018-2021. ....	14
Fig. 2. Producción mensual de cacao en los municipios de Cárdenas y Comalcalco. 2018-2021. ....	14
Fig. 3 . Fotografía del Amphipodo <i>Hyalella azteca</i> , empleado en esta investigación. Tomado de Peralta et al. (2019). ....	16
Fig. 4. Distribución geográfica de <i>Hyalella azteca</i> reportada en la literatura nacional. Tomado de Marrón Becerra, 2017. ....	18
Fig. 5. Ubicación de la laguna Esmeralda respecto al área urbana de la Ciudad de Villahermosa, Tabasco. ....	24
Fig. 6. Sistegramma Metodológico de la investigación. ....	26
Fig. 7. A) Traslado al sitio de colecta con ayuda de un pescador de la zona; y B) Lugar de colecta de <i>Pontederia crassipes</i> (Lirio Acuático). ....	28
Fig. 8 . Resguardo del material biológico con bolsa de plástico y ligas. ....	29
Fig. 9 . Colecta de la especie de <i>Pontederia crassipes</i> (lirio acuático) ubicada en la Laguna Esmeralda. ....	29
Fig. 10 . A) Recolección de agua del sitio en Vasos Precipitado; B) Elección de la raíz; C) Desprendimiento de la raíz del tallo y D) Se colocaron las raíces en el vaso con agua del sitio. ....	32
Fig. 11. Separación y cuantificación de los organismos de <i>Hyalella azteca</i> . ..	32
Fig. 12 . Características sexuales de <i>Hyalella azteca</i> macho y hembra. Tomado de Violante Huerta, 2020. ....	33
Fig. 13 . <i>Hyalella azteca</i> colectada en la Laguna Esmeralda. ....	34
Fig. 14 . A) Etiquetado de vasos precipitado; B) Abertura del recipiente del agroquímico; C-D) Obtención de dosis con ayuda de la jeringa; E-F) Añadido del agrotóxico; G) Clorpirifos Etil en el medio acuoso; H) Mezclado de la sustancia tóxica con un agitador; I) Sustancia incorporada; J) Cuantificación de los organismos muertos; K) Anotación de los resultados y L) Revisión con el estereoscopio de los organismos de <i>Hyalella azteca</i> muertos. ....	38
Fig. 15 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad con la Dosis de Extrapolación (0.05 mL). ....	46
Fig. 16 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis de 46	
Fig. 17 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis de 0.2 mL. ....	47
Fig. 18. Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis de 0.3 mL. ....	47
Fig. 19 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis 0.4 mL. ....	48
Fig. 20. Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 5 minutos. ....	48



Fig. 21 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 10 minutos.	49
Fig. 22 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 15 minutos.	49
Fig. 23 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 20 minutos.	50
Fig. 24 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 25 minutos.	51
Fig. 25 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 30 minutos	51
Fig. 26 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 35 minutos.	52
Fig. 27 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 40 minutos.	52

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Catálogo de Insecticidas empleados en Cacao y otros Cultivos del estado de Tabasco.	7
Tabla 2. Listado de agroquímicos del cacao en plantaciones con manejo tradicional. (Chávez García y Castelán Estrada, 2019).	8
Tabla 3 . Área de cultivo de cacao y número de productores de cacao en la Ranchería José María Pino Suárez, Comalcalco, Tabasco. (Ramírez Martínez, 2007).	9
Tabla 4 . Superficie municipal sembrada con cacao en Tabasco. 2018-2021.	13
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas del agroquímico Clorpirifol Etil.	21
Tabla 6. Descripción limnológica de la laguna Esmeralda, Tabasco, México.	23
Tabla 7 . Dosis de Aplicación de Clorpirifos Etil en las cinco Muestras con 10 individuos de <i>Hyalella azteca</i> .	35
Tabla 8 . Distribución temporal de <i>Hyalella azteca</i> en la laguna Esmeralda.	40
Tabla 9 . Características de los test de prueba.	42
Tabla 10 . Resultados de los Bioensayos con Clorpirifos Etil y mortalidad temporal de <i>Hyalella azteca</i> .	43
Tabla 11 . Resultados del Bioensayo con Interpolación de la concentración.	44
Tabla 12 . Valores de la DL <sub>50</sub> obtenidos con las dosis empleadas en el bioensayo toxicológico.	44
Tabla 13. Clasificación de la toxicidad de los plaguicidas. Tomado de Naserabad et al. (2015).	45



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



---

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIOS

Principalmente agradezco a Dios por darme la fortaleza de salir adelante en mis estudios, guiarme y permitirme concluir una etapa de mi vida que ha sido muy importante para mí, adquiriendo experiencias únicas que me ayudaron con mi formación académica.

De antemano agradezco a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco "DacBiol", por darme el privilegio de pertenecer a esta honorable institución, por todo el conocimiento adquirido, que me ayudo para mi formación como profesional convirtiéndose en mi segundo hogar.

A mis profesores por cada enseñanza que me brindaron, motivándome a no rendirme con sus palabras de sabiduría, esto no hubiera sido posible sin el apoyo que me dieron.

Agradezco también a mi asesor Ernesto Rodríguez Rodríguez, por ser pieza fundamental en esta tesis guiándome con su conocimiento y experiencia profesional, también a mis sinodales por ser parte de este proyecto y darme sus consejos cuando lo necesitaba.

Y antes de finalizar quisiera dar un agradecimiento muy importante a mi familia por su apoyo incondicional y motivarme a seguir adelante en todo momento para poder concluir mis estudios, dedico este logro a mis padres por ser las personas mas importantes en mi vida los amo.

En especial dedico este trabajo de tesis a mi madre, la Sra. Patricia Rubio Flores, por formar parte de mi vida, ser uno de mis principales motivos de salir adelante por estar conmigo a pesar de todos los obstáculos, gracias a su amor incondicional y comprensión en todo momento.

A mi padre, Sr. Eutiquio Vázquez Ramos, por ser mi mejor guía de vida, estar a mi lado en mis noches de desvelos, preocupándose por mi bienestar y cuidar de mí, gracias padre por el amor incondicional que me das, sin el cual no seria la persona que soy, con tu apoyo logre alcanzar una de mis metas mas importantes.



## 1. INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son sustancias que se emplean en la agricultura con el propósito de ayudar a mejorar los cultivos y aumentar su producción, la utilización de los agroquímicos se incrementó a causa de la demanda mundial de alimentos, situación que se ha convertido en el mal uso de estos productos (Guzmán *et al.*, 2016).

Particularmente, en el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) usan en la entidad más de diez sustancias tóxicas entre ellas están: el Aldicarb, Pirimicarb y el Paratión metílico (CICLOPLAFEST, 1991), estas sustancias muestran efectos sobre el medio ambiente, los problemas potenciales asociados con el uso intensivo de químicos agrícolas incluyen: destrucción de organismos no relacionados con el uso, contaminación de ecosistemas acuáticos (Reyes *et al.*, 2010).

El estado de Tabasco, es la entidad líder en producción, superficie sembrada y cosechada con cacao de la República Mexicana, según información obtenida de la plataforma SAGARPA la superficie sembrada del cacao en los años 2018- 2021 ha sido en promedio de 40670.65 (HA).

Para esta investigación se empleará Clorpirifos Etil para evaluar sus efectos tóxicos en pruebas eco toxicológicas con el uso del crustáceo *Hyaella azteca*. Debe mencionarse que el agroquímico Clorpirifos Etil es un insecticida de amplio espectro que también se emplea en otros cultivos del estado de Tabasco, pero a su vez se usa para el control de insectos en huertos familiares del sureste de México, lo cual lo convierte en un agroquímico importante para evaluar sus efectos tóxicos potenciales a través de pruebas toxicológicas prácticas a nivel de laboratorio.

Aunque el número de insectos plaga en el cultivo de cacao en México y en el estado de Tabasco, es mucho menor que los que se reportan en otras regiones y países del orbe, en donde se lleva a cabo este cultivo incluso para exportación, en México se ha elaborado desde el año de 1991 un catálogo de estos agroquímicos a través de la CICLOPLAFEST. En dicho documento, como se observa en la Tabla 1 se registran para México cinco tipos de plaguicidas y entre ellos se incluye a Clorpirifos Etil; sin embargo, dicha información se compara con información agronómica y



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



comercial sobre los agroquímicos empleados en el cacao y otros cultivos en el estado de Tabasco que nos fue proporcionado por el Ing. Moisés Amador Alarcón, el cual señala actualmente el desuso de Clorpirifos Etil para el control de insectos en el cultivo de cacao e indica que éste agroquímico se emplea en Tabasco para el cultivo de naranja.

Sin embargo, incluso especialistas de la agronomía en el estado de Tabasco también han señalado que el agroquímico organofosforado Malathion, cuyo precio comercial es incluso superior al de Clorpirifos Etil, se aplica para el control de insectos plaga en el cultivo de cacao con dosis de 2 mL/Litro de agua (López Andrade *et. al.* 2016); dosis que es incluso superior a la DL<sub>50</sub> definida en esta investigación eco toxicológica con el uso de *Hyaella azteca* y Clorpirifos Etil. Malathion que es un insecticida organofosforado (también muy tóxico), que no está incluido en la Tabla 1, para el documento de CICLOPLAFEST (1991) ni en el listado del Ing. Moisés Amador Alarcón, para los insecticidas propuestos o comercializados para el cultivo de cacao en Tabasco.

**Tabla 1. Catálogo de Insecticidas empleados en Cacao y otros Cultivos del estado de Tabasco.**

CATALOGO CICLOPLAFEST 1991		LISTADO ING. MOISÉS AMADOR ALARCÓN	
Abamectina	*	Abamectina	No se enlista
Azinfos Metílico	No se Enlista	Azinfos Metílico	*
Pirimicarb	*	Pirimicarb	No se usa en cacao
Clorpirifos Etil	*	Clorpirifos Etil	Se usa en Naranja
Monocrotofos	*	Monocrotofos	Se usaba
Paration Metílico	*	Paration Metílico	Actualmente Prohibido

Por otra parte, en la Tabla 2 tomada de la información de una investigación reciente relacionado sobre el manejo tradicional y el agroecológico de plantaciones de cacao, se clasificaron todas las sustancias químicas empleadas, su clasificación se describe y su empleo porcentual en 28 plantaciones de cacao con manejo convencional localizadas en ocho localidades ubicadas en la Región Chontalpa, Tabasco (Chávez García y Castelán Estrada, 2019).

Por lo anterior, para fines exclusivamente comparativos, se presentan en el Anexo 1 y 2, se incluyen los listados de los agroquímicos propuestos para el cultivo de cacao en el estado de Tabasco, a partir de la información de Cicloplafest (op. cit) y el inventario de agroquímicos de uso comercial en la entidad proporcionados por el Ing. Moisés Amador Alarcón.



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.I.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



Debe señalarse que los productores de cacao en el estado de Tabasco y Chiapas, las entidades con la mayor producción del país, viven en localidades dispersas y con diverso grado de marginación social.

Para ubicar la situación especial de una localidad del municipio de Comalcalco, Tabasco (el municipio con mayor superficie cultivada y con la mayor producción estatal de cacao, se considerará la información emanada de una investigación social y de carácter agro cultural realizada por Ramírez Martínez (2007) en la Ranchería José María Pino Suarez, en la cual dicho autor inventario 505.53 ha con este tipo de plantación, cuyas superficies y número de productores se describen en la Tabla 2.

**Tabla 2. Listado de agroquímicos del cacao en plantaciones con manejo tradicional. (Chávez García y Castelán Estrada, 2019).**

USO	AGROQUIMICO	TIPO	% <sup>1</sup>	PORCENTAJE <sup>2</sup>
INS	Paratión Metílico	Organofosforado	42.8	80.7
INS	Monocrotofós	Organofosforado	32.1	
INS	Clorpirifos Etil	Organofosforad0	17.8	
INS	Cipermetrina	Piretroide	14.2	26.9
INS	Lamda Cialotrina	Piretroide	10.7	
INS	Endosulfan	Organoclorado	3.5	3.8
HER	Paraquat	Heterocíclico	71.4	
FUN	Azoxytrobin	Metoxiacrilato	3.5	82.2
FUN	Sulfato de Cobre	Pentahidratado	75.0	
FUN	Oxicloruro de Cobre	Cúprico Inorgánico	75.0	
FER	Varios Elementos	Fe, Mn, B, Cu, Zn, Co, Mo, S, Mg y Ca	57.1	96.5
FER	Elementos Esenciales	N-P-K	71.4	
FER	Urea	Sólido Granulado N	28.6	
HOR	Hormonas Auxinas	Todo el Ciclo Vegetal	85.8	85.8
HOR	Hormonas Giberelinas	Fitohormona	85.8	

1) Porcentaje de uso de en las plantaciones de cacao evaluadas y 2) Porcentaje por Grupo o Tipo de Agroquímico.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Tabla 3 . Área de cultivo de cacao y número de productores de cacao en la Ranchería José María Pino Suárez, Comalcalco, Tabasco. (Ramírez Martínez, 2007).

AREA DE CULTIVO Ha	NUMERO DE PRODUCTORES	PORCENTAJE	
0.1-0.5	69	26.4	
0.51-1.0	95	36.4	
1.01-1.5	27	10.4	
1.51-2.0	35	13.4	
2.01-2.5	8	3.0	
2.51-5.0	27	10.4	
<b>TOTALES</b>	<b>261 PROD.</b>	<b>505.53 Ha</b>	<b>100.0</b>

Por su parte, el género *Hyaella* es un crustáceo con amplia distribución en el continente americano y particularmente *Hyaella azteca* se distribuye en diversos ecosistemas acuáticos del estado de Tabasco.



## 2. JUSTIFICACIÓN

Las pruebas toxicológicas tienen el objetivo de medir los efectos de uno o más contaminantes en las especies, estas pruebas de toxicidad implican exponer organismos de prueba a concentraciones crecientes de sustancias tóxicas para detectar cualquier cambio en ellas en un determinado periodo de tiempo (Larrain, 1995). Evaluar los efectos de este plaguicida ayudará a comprender cómo estos químicos afectan a los organismos acuáticos.

En el estado de Tabasco uno de los productos o cultivos de mayor importancia en la región Chontalpa es el cacao. De acuerdo con una lista de 11 agroquímicos empleados en el estado de Tabasco, cinco son insecticidas entre ellos Clorpirifos Etil. Por lo cual nos enfocaremos en este último insecticida, que cobra mayor importancia porque se emplea en el cultivo de naranja y caña de azúcar.

El propósito de este proyecto es realizar bioensayos toxicológicos empleando al agroquímico Clorpirifos etil, que es uno de los plaguicidas más usados en el mundo, incluso está prohibido en países de la UE. Con los resultados se determinará qué tan tóxico es para el medio ambiente y para los productores que manejan dicho agroquímico.

Respecto al organismo que se empleó en los bioensayos, se debe mencionar que *Hyalella azteca* en un invertebrado de amplia distribución en el estado de Tabasco, que incluso en las cercanías de la ciudad de Villahermosa se puede encontrar en ríos o arroyos, como en pequeñas lagunas o incluso lagos artificiales de excavación de arena.



### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 El cacao como especie de importancia agrícola

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es originario de América del Sur, es un cultivo de importancia económica, industrial, social, cultural y ambiental (Motamayor *et al.*, 2002). En los últimos años en México, se ha observado una tendencia decreciente en la producción, siendo el estado de Tabasco el principal productor seguido de Chiapas.

Desafortunadamente, el cultivo del cacao en los estados de Tabasco y Chiapas afronta una serie de problemas que van desde su economía, cuestiones ambientales, sociales y tecnológico que se han empeorado por dificultades fitosanitarias y agroecológicas, forzando a los productores a desistir de este cultivo (González, 2005).

Las enfermedades fitosanitarias del cacao tienen que ver con las condiciones de humedad que prevalecen en las plantaciones, debido a las condiciones de bajas temperaturas generadas por los árboles sombra empleados en el cultivo de cacao. En Tabasco y Chiapas se reportan hasta 18 especies de árboles sombra, que aparte de las funciones agroecológicas que cumplen en la plantación, promueven el crecimiento de diversas especies de hongos dañinos como *Moniliophthera roreri*, la más severa plaga del cacao, conocida como Moniliosis (Hernández Gómez *et al.*, 2015).

También en el cultivo del cacao existe empleo de sustancias insecticidas para diversos procesos agro culturales, entre ellas destacan el Aldicarb, Paration Metilico, Monocrotofos, Clorpirifos Etil y Pirimicarb, de acuerdo con el Anexo 1 de este documento.

El beneficio del cacao después de la cosecha incluye una serie de actividades que se pueden enlistar de la siguiente manera: lavado y secado, fermentación en bolsas



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



o en cajas y comercialización en baba, que puede poner al productor en contacto directo o indirecto con los agroquímicos empleados antes de la cosecha.

La taxonomía de *Theobroma cacao* L. se describe a continuación:

**Reino:** Plantae Jussieu 1774

**Subreino:** Tracheobionta Sinnott 1935

**División:** Magnoliophyta Cronquist *et al.* 1966

**Clase:** Magnoliopsida Brongn 1843

**Orden:** Malvales Dumort 1829

**Familia:** Malvaceae Juss 1789

**Subfamilia:** Sterculiaceae

**Género:** *Theobroma*

**Especie:** *Theobroma cacao* L.

Baudilio Rondón y Cumana Campos (2005) reportan 22 especies del Género *Theobroma* en Sudamérica y Venezuela entre las cuales *Theobroma cacao* L. es la de mayor importancia económica, social y ambiental en la región de América Central y Sudamérica, como insumo esencial para la fabricación de chocolate en todos los países del orbe productores de este alimento.

### 3.1.2. El cultivo de cacao en Tabasco

En la tabla 4 se incluye la superficie sembrada para el ciclo 2018-2021, con datos tomados de la plataforma de la SAGARPA. Se puede así identificar que son 12 los municipios con superficie sembrada y cosechada con *Theobroma cacao* L. en el estado de Tabasco. Destacando así que Comalcalco, Cárdenas, Cunduacán, Huimanguillo, Jalpa de Méndez y Paraíso, representan el 97.7% de la superficie sembrada con cacao y todos ellos se ubican en la denominada Región Chontalpa.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Tabla 4 . Superficie municipal sembrada con cacao en Tabasco. 2018-2021.

MUNICIPIO	SUPERFICIE SEMBRADA CON CACAO (HA)			
	2018	2019	2020	2021
Cárdenas	10342	10340	10342	10342
Centro	286	286	286	286
Comalcalco	11055	11053	11055	10055
Cunduacán	8511	8509	8511	8511
Huimanguillo	5671	5669	5671	5671
Jalapa	5	5	5	5
Jalpa de Méndez	2830	2829	2830	2830
Macuspana	40	40	40	40
Nacajuca	37	37	37	37
Paraíso	1583	1582	1583	1583
Tacotalpa	324	324.3	324.3	324.3
Teapa	239	239	239	239
<b>REGIÓN CHONTALPA</b>	<b>39992</b>	<b>39982</b>	<b>39992</b>	<b>38992</b>
<b>% R. CHONTALPA</b>	<b>97.7</b>	<b>97.7</b>	<b>97.7</b>	<b>97.67</b>
<b>TOTAL, EN TABASCO</b>	<b>40923</b>	<b>40913.3</b>	<b>40923.3</b>	<b>39923</b>

Es pues en las localidades y ecosistemas de estos seis municipios de la Región Chontalpa, en donde el uso de agroquímicos en el cacao, permite identificar la mayor sensibilidad en términos de los efectos tóxicos entre la población tabasqueña y los ambientes edáficos y acuáticos que reciben esta carga tóxica.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.I.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Otro aspecto que es adecuado mencionar, es que la producción y el beneficio de cacao en la entidad, aunque el cultivo es perenne, se concentra en los últimos siete meses de cada año, presentando una mayor variabilidad histórica mensual y anual que la superficie sembrada.



Fig. 1. Producción anual del cacao en el estado de Tabasco. 2018-2021.

Lo anterior se puede identificar con la gráfica que se presenta en la Fig. 2, en la que se concentran los ciclos anuales y mensuales de la producción de cacao para los municipios de Cárdenas y Comalcalco, que abarcan en conjunto más del 52.2% de la superficie sembrada y cosechada de la entidad.



Fig. 2. Producción mensual de cacao en los municipios de Cárdenas y Comalcalco. 2018-2021.



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



Se puede observar en la gráfica anterior que en realidad los últimos cinco meses del año (agosto-diciembre) son los meses de mayor producción (cosecha y beneficio) de cacao en el estado de Tabasco.

De esa manera, el manejo fitosanitario para el cultivo de cacao es más importante durante la época invernal, en cuanto al control de las diversas especies de hongos fitopatógenos como el control de la Moniliasis, pero el uso de insecticidas, es más importante en períodos secos del año e incluso también para todo el ciclo anual (ICA, 2015).

El cacao es el cultivo con mayor diversidad de insectos asociados a una plantación en el mundo y su prevalencia depende del manejo inapropiado de los árboles sombra. Para el estado de Tabasco son seis los principales insectos plaga en el cultivo del cacao: el trips de banda roja (*Solenothrips rubrocinctus*), el salivazo (*Clastoptera laenata*), el pulgón negro (*Toxoptera auranti*), el gusano lagarto con dos especies (*Hemeroblemma mexicana* y *Hemeroblemma numeria*) y la mosca blanca (*Lecanoideus floccissimus*) (Cortez Madrigal *et al.*, 2008; Ortiz y Sánchez, 2008; Gerónimo López *et al.*, 2013; Gerónimo Cruz, 2014 y López Andrade *et al.*, 2016), siendo estas últimas especies relacionadas con la fructificación del cultivo y la época invernal.

A estas especies se pretende controlar con el uso de diversos insecticidas, como es el caso del agroquímico Clorpirifos Etil, que fue empleado en esta investigación eco toxicológica.

Se debe así considerar que cerca del 97% de las plantaciones de cacao en Tabasco se enfocan al cultivo de este producto en pequeñas áreas de cultivo ubicadas en la Región Chontalpa. Los productores cacaoteros trabajan bajo un esquema de rendimiento más variado y para la continuidad de esta tradición cacaotera es imprescindible el manejo eficiente de agroquímicos en estos medios de vida (Priego Castillo *et al.*, 2009).



### 3.2. La especie *Hyaella azteca* y los bioensayos toxicológicos

En la Fig. 3 se presenta la imagen del crustáceo empleado para las pruebas de ecotoxicidad con el agroquímico que es utilizado para el cultivo del cacao Clorpirifos Etil que de igual manera es utilizado en otros cultivos de la región. Este invertebrado acuático de agua dulce tiene una amplia distribución en el estado de Tabasco pues se ha colectado en 18 lagunas continentales de la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla, como la especie dominante en troncos hundidos (Montalvo Urgel *et al.*, 2010), pero también se le puede encontrar en lagunas urbanas cercanas a la Ciudad de Villahermosa, Tabasco (Sánchez *et al.*, 2012).



Fig. 3 . Fotografía del Amphipodo *Hyaella azteca*, empleado en esta investigación. Tomado de Peralta *et al.* (2019).

La clasificación taxonómica de la especie Hyaellidae con especies endémicas y de amplia distribución del continente americano se presenta de la siguiente manera:



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



1. **Phylum:** Artropoda Latreille 1829
2. **Subphylum:** Crustácea Brunnich 1772
3. **Clase:** Malacostraca Latreille 1802
4. **Orden:** Amphipoda Latreille 1816
5. **Suborden:** Senticaudata Lowry & Myers 2013
6. **Superfamilia:** Talitroidea Serejo 2004
7. **Familia:** Hyaellidae Bullycheva 1957
8. **Género:** *Hyaella* S.I. Smith 1874
9. **Especie:** *Hyaella azteca* Sausurre 1802

Väinölä *et al.* (2008) reportan que entre los Amphipoda de las cuatro Familias pertenecientes a la Superfamilia Talitroidea, la Familia Hyaellidae integra el mayor número de especies distribuidas predominantemente en la Región Neotropical, actualmente se reportan cerca de 84 especies descritas quedando distribuidas 36 de ellas en Sudamérica (De los Ríos Escalante *et al.*, 2012).

En Norteamérica se ha encontrado el “complejo azteca” que integra especies fenotípicamente similares, pero con pequeñas diferencias morfológicas o genéticas que hacen compleja la delimitación entre especies (Marrón Becerra, 2017).

*Hyaella azteca* fue descrita por primera vez como *Amphipoda Latreillei* por Sausurre en 1802 y re descrita como *Hyaella azteca* por González y Watling (2002).

Actualmente existe en la literatura científica reportes para esta especie en 13 estados de la República Mexicana: Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Michoacán, Puebla, Ciudad de México, Veracruz, Tabasco, Campeche, Chiapas, Yucatán y Quintana (ver Fig. 4). Violante Huerta (2020), la reporta también para el estado de Morelos.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.

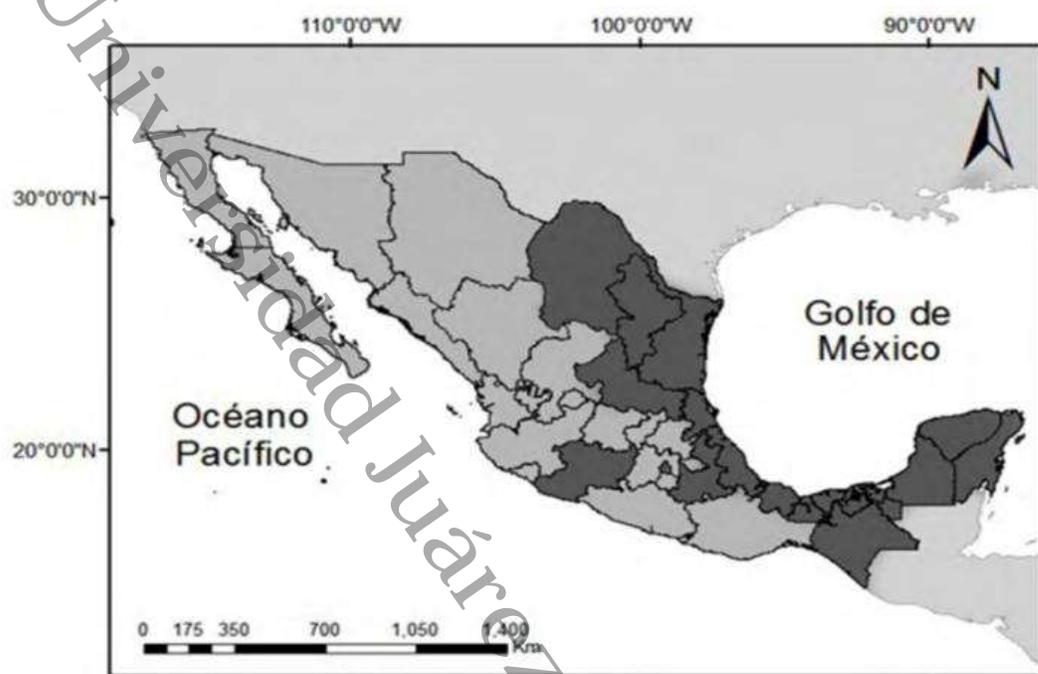


Fig. 4. Distribución geográfica de *Hyalella azteca* reportada en la literatura nacional. Tomado de Marrón Becerra, 2017.

Particularmente, *Hyalella azteca* alcanza a medir hasta 8-9 mm; tiene reproducción sexual; se alimenta de algas y detritus orgánico; vive en aguas epigeas y en ambientes loticos y lenticos incluso cercanos a áreas urbanizadas; es de fácil colecta pues no solamente es bentónica, sino que también se le puede observar en las raíces de plantas acuáticas en donde busca refugio contra sus depredadores (Colla, 2016).

Aunque en México no existe normativa para el empleo de *Hyalella azteca* en pruebas ecotoxicológicas, en los Estados Unidos se emplea esta especie bajo criterios y protocolos experimentales para evaluar la toxicidad en sedimentos acuáticos (EPA, 2000). Dicho protocolo se ha aplicado para este tipo de evaluaciones en varios países de América con el uso de otras especies del género *Hyalella* (Mac Loughlin. 2015).



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



De acuerdo con dicho protocolo, cuando se selecciona un organismo para pruebas toxicológicas, se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

1. La sensibilidad a las sustancias tóxicas.
2. Relevancia ambiental.
3. Tiempos cortos de exposición y generación.
4. Facilidad en el cultivo y mantenimiento en el laboratorio.
5. Tolerancia a las variaciones fisicoquímicas del medio.
6. Facilidad de identificación Taxonómica.
7. Importancia ecológica.
8. Localización geográfica en términos del sitio de estudio.
9. Compatibilidad con la metodología del ensayo (Mac Loughlin. 2015).

Al ser una especie autóctona, los hábitos son similares a los de la especie Protocolizada y fácil de mantener y sobrevivir en condiciones de laboratorio. En los últimos años, los laboratorios han comenzado a utilizar anfípodos comunes como *Hyaella curvispina*, por su distribución sudamericana se ha empleado para evaluaciones toxicológicas con plaguicidas (Jergentz *et al.*, 2004), cuyo protocolo de bioensayo se establece años más tarde por Peluso *et al.* (2011).

De la misma manera, *Hyaella azteca* fue empleada como especie centinela para evaluar la mitigación de la mezcla de los agroquímicos Atrazina, Metholachlor y Fipronil en un humedal húmico donde la correlación entre la concentración de plaguicidas y la respuesta de *Hyaella azteca* indicó que la toxicidad observada en los sedimentos se debió principalmente a la permetrina y la posible toxicidad sinérgica adicional de la atrazina y el metilparatión. (Lizotte *et al.*, 2009). Más recientemente Walsh *et al.* (2019) señalaron la utilidad de la especie *Hyaella azteca* para evaluar toxicidad con aguas epigeas de baja carga iónica.



### 3.3. Investigación sobre agroquímicos en Tabasco

En el estado de Tabasco, entre las investigaciones realizadas sobre plaguicidas, se pueden mencionar la de Hernández Acosta (2012) quien realiza el diagnóstico del uso de plaguicidas en el cultivo de la caña de azúcar en el municipio de Cárdenas, Tabasco.

De la misma manera, Jiménez León (2013) realiza el diagnóstico situacional del uso de plaguicidas del cacao en varias asociaciones de productores del municipio de Comalcalco y López Ocaña (2013) revisa la seguridad y el manejo de Equipos de Protección Personal entre los trabajadores de asociaciones de productores de cacao también del municipio de Comalcalco, Tabasco.

No obstante, su importancia para el estado de Tabasco, en cuanto es el primer productor de cacao en la República Mexicana, hasta el momento las evaluaciones experimentales con agroquímicos y especies acuáticas o edáficas en Tabasco están ausentes.

Sin embargo, dentro de la aplicación de bioensayos en relación con tóxicos de origen petrolero, también importantes en la entidad, se puede mencionar el uso de las especies de Crustaceos Cladóceros de agua dulce *Simocephalus mixtus* y *Daphnia magna* (Martínez Gerónimo *et al.*, 2008).

#### 3.3.1. Propiedades Toxicológicas de Clorpirifos Etil

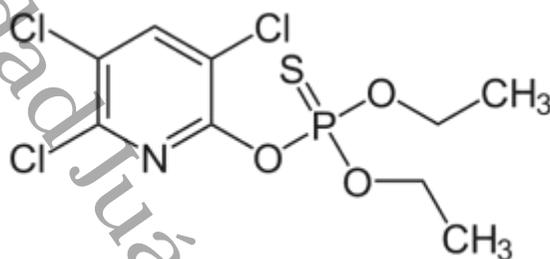
Clorpirifos Etil es un insecticida organofosforado cuyos riesgos toxicológicos todavía se están evaluando, no obstante, ello en la Unión Europea en el año de 2019 se ha prohibido su uso.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



La fórmula química y la estructura molecular de este agroquímico organofosforado se describen a continuación:



En la Tabla 5 se presenta el concentrado de información toxicológica básica sobre el Clorpirifos Etil, la descripción de sus propiedades fisicoquímicas, así como las dosis de aplicación y la comercialización de este insecticida en relación con el cultivo de cacao en Tabasco.

**Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas del agroquímico Clorpirifol Etil.**

<b>Nomenclatura</b>	Clorpirifos Etil
<b>Nombre IUPAC</b>	O,O-dietil,0-(3,5,6-Tricloro-2-piridil) fosforotioato
<b>Número CAS</b>	2921-88-2
<b>Tipo</b>	Insecticida
<b>Clasificación</b>	Organofosforado
<b>Usos</b>	Agrícola, urbano, industrial, pecuario, doméstico
<b>Peso Molecular</b>	359.59
<b>Formula Química</b>	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Densidad Relativa	1.398 a 43.5°C
Punto de Ebullición	160°C
Punto de Fusión	41-42°C
Dosis de Aplicación en Cacao	0.7 L/ha
Coefficiente de Henry	$2.9 \times 10^{-6}$ atm/m <sup>3</sup> /mol a 20°C
Presión de vapor	$2.02 \times 10^{-5}$ mmHg a 25°C
Solubilidad en Agua	0.4 mg/L a 23°C
Persistencia	Moderada (hasta un año)
Vida Media	60-120 días
Coefficiente de Reparto Kow	4.96 Alta afinidad para Lípidos
Coefficiente de Reparto Koc	1250-12600 Moderada Adsorción en suelo
Toxicidad	Riesgo Grave para vida silvestre
Muy Tóxico	Para peces e invertebrados
Factores de Toxicidad	Toxicidad se incrementa con la Temperatura



#### 4. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Los organismos de *Hyalella azteca* que se emplearon en esta investigación fueron colectados en la denominada laguna Esmeralda, que está localizada cerca de la ciudad de Villahermosa, a un costado de la autopista Villahermosa-Nacajuca. Este ecosistema epigeo es en realidad una laguna de excavación de arena que actualmente ha perdido contacto tributario con el río Zapote, de cuyo cauce se originó de manera artificial por el dragado de materiales pétreos.

Para la descripción de este ecosistema lacustre se incluye la información limnológica de este vaso lacustre en la Tabla 6.

Tabla 6. Descripción limnológica de la laguna Esmeralda, Tabasco, México.

<b>NOMBRE</b>	Laguna Esmeralda
<b>ORIGEN</b>	Excavación de Arena
<b>LATITUD</b>	18°02'16.2"N
<b>LONGITUD</b>	92°55'57.08"O
<b>ALTITUD</b>	7 m.s.n.m.
<b>AREA SUPERFICIAL</b>	93822.32 m <sup>2</sup>
<b>PERIMETRO</b>	1462.62 m
<b>LONGITUD MAXIMA</b>	480.55 m
<b>ANCHURA MAXIMA</b>	289.72 m
<b>RELACION LARGO/ANCHO</b>	1.66
<b>TIPO DE MEZCLA</b>	Completa
<b>TRANSPARENCIA PROMEDIO</b>	0.68 m
<b>PROFUNDIDAD MAXIMA</b>	9.75 m
<b>PROFUNDIDAD PROMEDIO</b>	6.26 m
<b>pH PROMEDIO</b>	8.49
<b>CONDUCTIVIDAD PROMEDIO</b>	569 micro S/cm
<b>TEMP. SUPERFICIAL PROMEDIO</b>	28.83°C



En la Fig. 5 se presenta la ubicación geográfica de la laguna Esmeralda en relación con la mancha urbana de la Ciudad de Villahermosa, capital del estado de Tabasco. Se debe señalar, que no obstante sus pequeñas dimensiones (9.3822 ha), en este ecosistema urbano se ha colectado *Hyaella azteca* en cantidades suficientes para realizar los ensayos toxicológicos con el agroquímico Clorpirifos Etil.



Fig. 5. Ubicación de la laguna Esmeralda respecto al área urbana de la Ciudad de Villahermosa, Tabasco.



## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo General

- Determinar la toxicidad del agroquímico Clorpirifos Etil del cacao (*Theobroma cacao* L.), utilizando bioensayos en laboratorio con la especie del Crustáceo (*Hyalomma azteca* S.I.), en Centro Tabasco, México.

### 5.2. Objetivos Específicos.

- Realizar el protocolo de bioensayos con el uso de *Hyalomma azteca* y el efecto del agroquímico del cacao.
- Determinar la mortandad del crustáceo *Hyalomma Azteca* con diferente concentración y exposición del Clorpirifos Etil en los bioensayos.
- Proponer evaluación técnica práctica para medir la toxicología del Clorpirifos Etil en laboratorio.



## 6. MATERIALES Y METODOS

### 6.1. Sistograma Metodológico.

La presente investigación es de tipo experimental y estuvo basada en un esquema metodológico que se describe en la Fig. 6. En principio en él se integran metodologías y actividades de campo, laboratorio y gabinete, que serán descritas con detalle en el presente estudio.

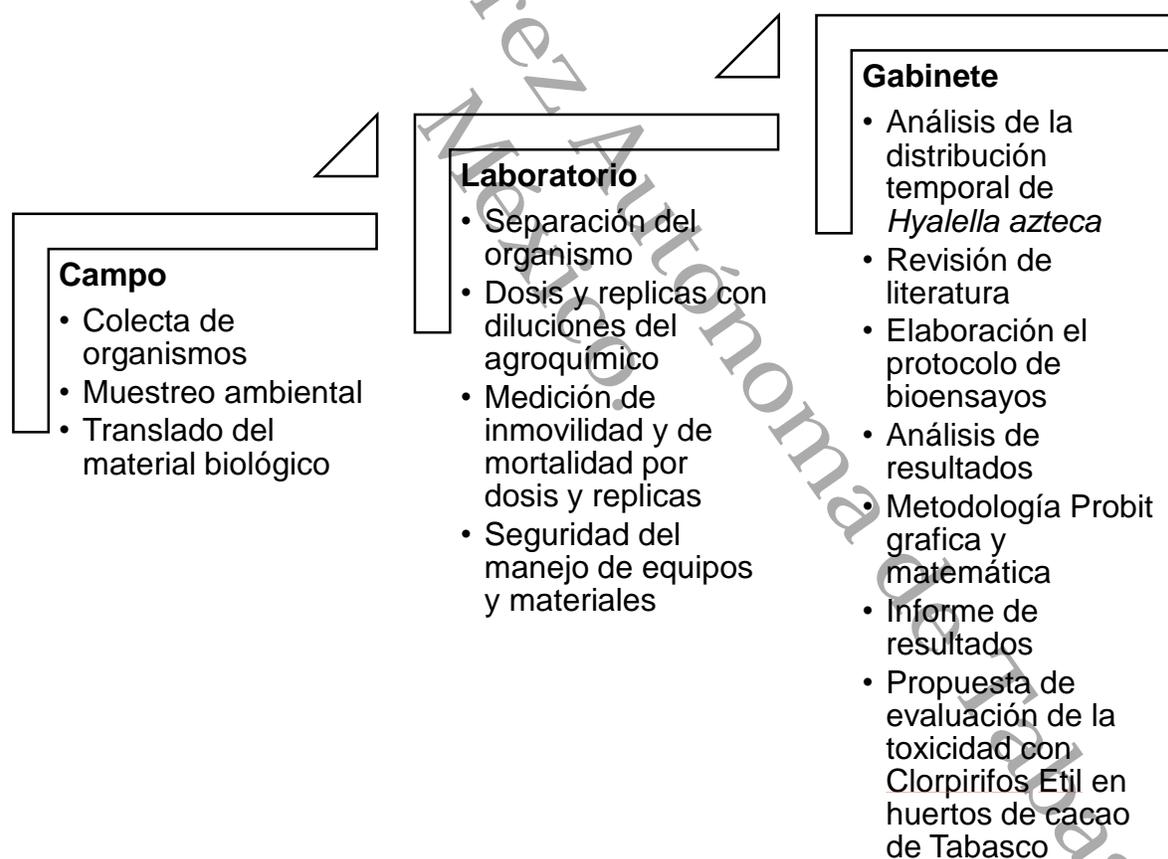


Fig. 6. Sistograma Metodológico de la investigación.



## 6.2. Actividades de campo

### 6.2. 1. Material de campo

Para la colecta de los individuos de esta especie se utilizaron:

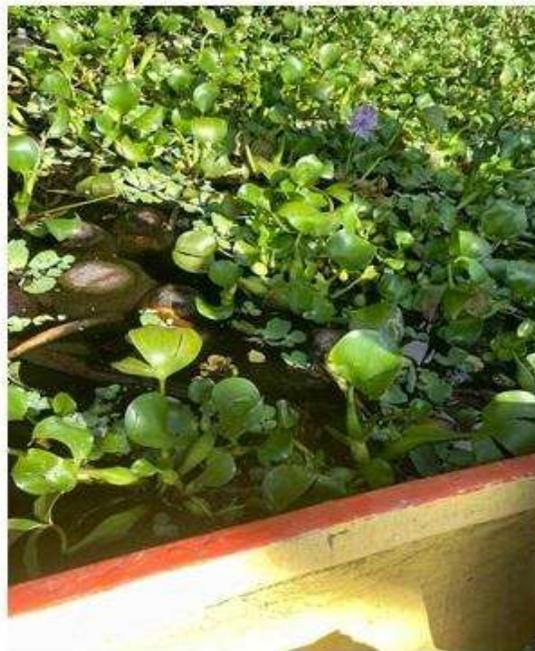
1. 3 cubetas con capacidad de 20 L
2. 6 ligas medianas
3. 3 bolsas de plástico transparente de 60 x 90

Con los materiales ya mencionados se obtuvieron los sustratos vegetales de *Pontederia crassipes* (lirio acuático) y *Pistia stratiotes* (lechuga de agua), la colecta se realizó en la laguna esmeralda el día 4 de diciembre de 2022 a las 10:30 A.M. (ver Fig. 7), para ello se buscó el servicio de un pescador que conociera el sitio, con ayuda de un cayuco se tomaron las muestras, transportando en él las tres cubetas de 20 litros en donde se tomaron los sustratos vegetales de lirio acuático y lechuga de agua de diferentes puntos de la laguna (ver Fig. 9), al finalizar la colecta se llevaron a la ribera de la laguna las cubetas en donde se colocó a cada una bolsa de plástico transparente y fue atado con las ligas para facilitar el transporte de las muestras.

Con estos referentes se trasladaron las muestras biológicas al laboratorio para su cuantificación y manejo posterior.



A



B

Fig. 7. A) Traslado al sitio de colecta con ayuda de un pescador de la zona; y B) Lugar de colecta de *Pontederia crassipes* (Lirio Acuático).





Fig. 8 . Resguardo del material biológico con bolsa de plástico y ligas.



Fig. 9 . Colecta de la especie de *Pontederia crassipes* (lirio acuático) ubicada en la Laguna Esmeralda.

### 6.3. Actividades de Laboratorio

De acuerdo con Florencia Colla (2015) el género *Hyaella* presenta una estructura anatómica con tres regiones: la cabeza o cefalón (en la que se pueden distinguir un par de ojos sésiles y dos pares de anténulas), el tórax o pereion (compuesto por siete segmentos y un par de gnatopodos anteriores y 5 pares de pereopodos) y el abdomen (dividido en pleosoma y urosoma o telson (compuesto por tres pares finales de uropodos). Por ello es necesario usar un material y equipo adecuado para poder diferenciarlo de otros organismos.



### 6.3.1. Material de laboratorio

Los materiales de laboratorio que se utilizaron para la separación y los bioensayos fueron:

1. 2 Vasos precipitados de 500 mL
2. 1 Cedazo
3. 5 Vasos precipitados de 1L
4. 2 Agujas de disección
5. 2 Cajas Petri
6. 2 Pinceles chicos
7. 1 Agitador de vidrio
8. 1 Jeringa de insulina de 0.5 mL
9. Estereoscopio
10. Guantes
11. Cubre bocas
12. Agroquímico Clorpirifos etil de 250 ml
13. 50 crustáceos de *Hyalella azteca*

Para realizar la separación de los organismos prueba se cortó la raíz del tallo y se introdujo en un vaso precipitado de 500 mL con agua de la laguna, para mantener vivos a los organismos presentes en la raíz (ver Fig.10), se procedió a cortar pequeños segmentos de la raíz para ser colocados en la Caja Petri al igual que pequeñas porciones de agua de la laguna, posteriormente se procedió a colocar la Caja Petri en el estereoscopio para poder observar al organismo (ver Fig. 11), con ayuda de las agujas de disección se movían las raíces con el fin de que los organismos de *Hyalella azteca* salieran de las mismas; se utilizó un pincel para poder extraer al organismo de la Caja Petri y ser almacenado en el recipiente de vidrio de 1 L que anteriormente tenía colocado 1 L de agua del sitio.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



La separación y cuantificación de organismos de la especie *Hyaella azteca* se hicieron en el laboratorio de biología de la División Académica de ciencias biológicas, con el uso de Estereoscopio (con aumento de 10x) como lo podemos observar en la Fig. 11 y el lavado y tamizado del material proveniente de la colecta de las plantas vasculares acuáticas.





Fig. 10 . A) Recolección de agua del sitio en Vasos Precipitado; B) Elección de la raíz; C) Desprendimiento de la raíz del tallo y D) Se colocaron las raíces en el vaso con agua del sitio.



Fig. 11. Separación y cuantificación de los organismos de *Hyalella azteca*.



Con este procedimiento de separación y cuantificación en cada muestra de plantas vasculares, se identificaron los siguientes tipos de organismos de la especie *Hyalella azteca*:

1. Juveniles: con tallas entre 3 y 6 mm
2. Machos adultos: tallas de más de 6 mm y gnatopodos protuberantes
3. Hembras Adultas: entre 6 y 8 mm y gnatopodos más pequeños, y
4. Hembras ovígeras: con sacos ovígeros entre los segmentos del tórax

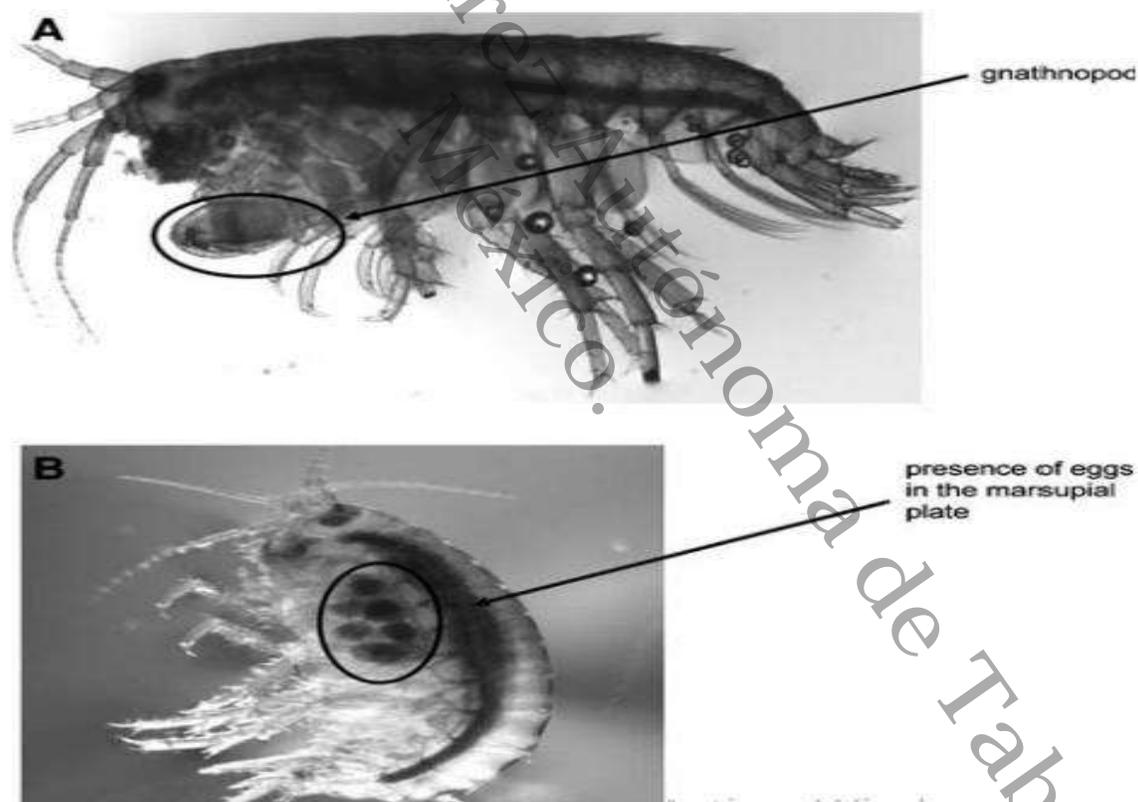
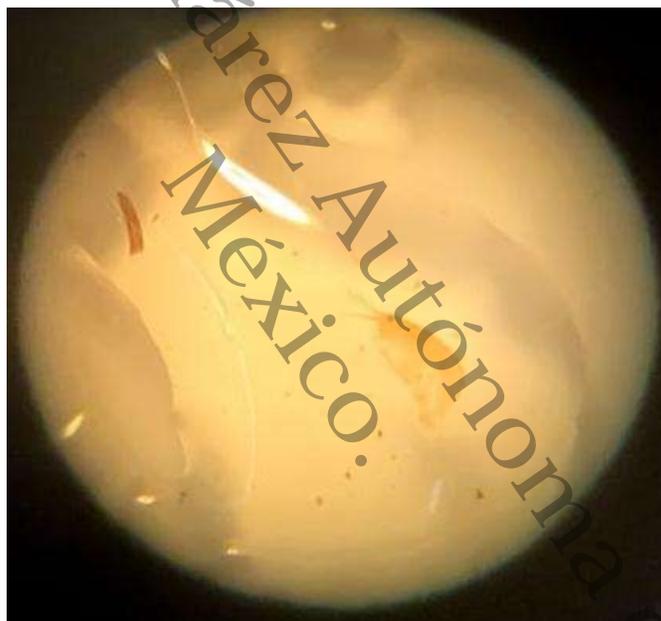


Fig. 12 . Características sexuales de *Hyalella azteca* macho y hembra. Tomado de Violante Huerta, 2020.



De estos cuatro tipos de organismos, se utilizaron todos de manera conjunta debido a que la colecta se efectuó a inicios del mes de diciembre, por lo cual aún no se hallaba la suficiente producción de *Hyalella azteca*, esto lo podemos observar mejor en la Tabla 7.

Una vez identificados y separados los organismos se almacenaron en recipientes de vidrio de 1 L que contienen agua proveniente del sitio de su colecta, hasta antes del inicio de cada ensayo toxicológico.



**Fig. 13 . *Hyalella azteca* colectada en la Laguna Esmeralda.**

Después de haber cuantificado los organismos para ser depositados en el recipiente correspondiente, se procedió a etiquetar cada vaso de precipitado con la leyenda testigo, muestra 1, 2, 3 y 4, esto con el fin de no tener ningún error al momento de añadir el agroquímico y que las dosis fueran las correctas para cada recipiente.

Se procedió a quitar la tapa y el sello de seguridad del agroquímico, para introducir la jeringa de insulina de 1 mL con la cual se tomaron las dosis señaladas en la tabla



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



7. Se añadió a cada recipiente el agroquímico y con ayuda de un agitador se mezcló el Clorpirifos Etil de manera homogénea; se dispuso de un cronómetro para medir el tiempo de mortalidad de los organismos revisándolos cada 5 minutos.

Para poder diferenciar a los organismos muertos de aquellos que solo habían perdido su movilidad se tomó una aguja de disección para comprobar que los organismos no tuvieran reacción alguna a los estímulos, si estos no presentaron algún movimiento se consideraron como muertos y se inició el conteo, esto se realizó cada 5 minutos hasta que todos los organismos prueba murieron.

Para esta prueba eco-toxicológica realizada el tiempo máximo de evaluación de la mortalidad de los organismos en este bioensayo fue a los 25 minutos, lapso en el que no encontraba ningún organismo con vida, lo cual se comprobó revisando minuciosamente los individuos de *Hyaella azteca* en el estereoscopio.

En la tabla 7 se muestran las dosis usadas para el bioensayo, las cuales se fueron duplicando en cada recipiente manteniendo el testigo libre del agroquímico.

**Tabla 7 . Dosis de Aplicación de Clorpirifos Etil en las cinco Muestras con 10 individuos de *Hyaella azteca*.**

Dosis de Aplicación del Agroquímico Clorpirifos Etil.				
Testigo	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
0	0.1 mL	0.2 mL	0.3 mL	0.4 mL

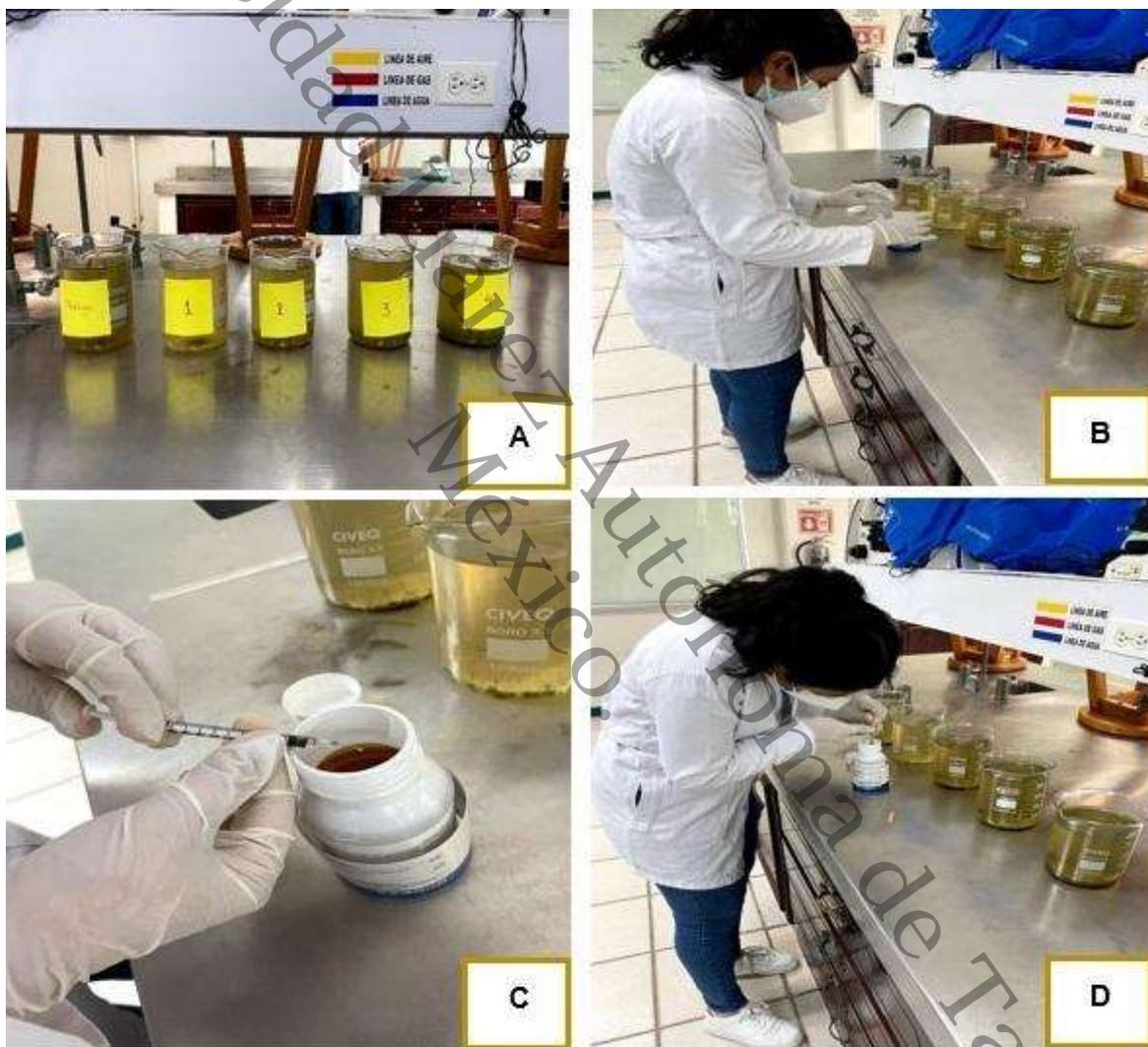
En pruebas toxicológicas agudas se deben emplear un mínimo de cinco réplicas de ensayos con un número entre 10-12 organismos por dilución del agrotóxico a evaluar. En este estudio con el uso de Clorpirifos Etil, para este bio-ensayo se usaron solo 10 organismos por recipiente, debido a la poca presencia de *Hyaella azteca* en el sitio de colecta. Entre esas cinco replicas, el testigo no contiene dilución del tóxico y el rango de diluciones de las otras cuatro debe ir aumentando a partir de un nivel de concentración inicial.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.

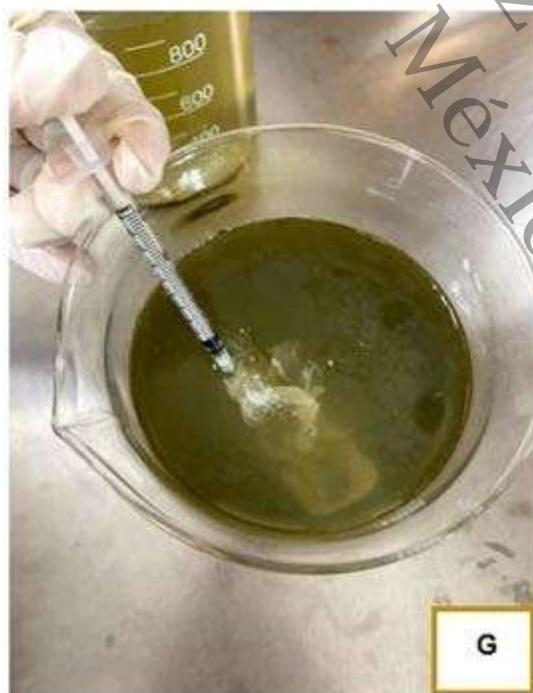
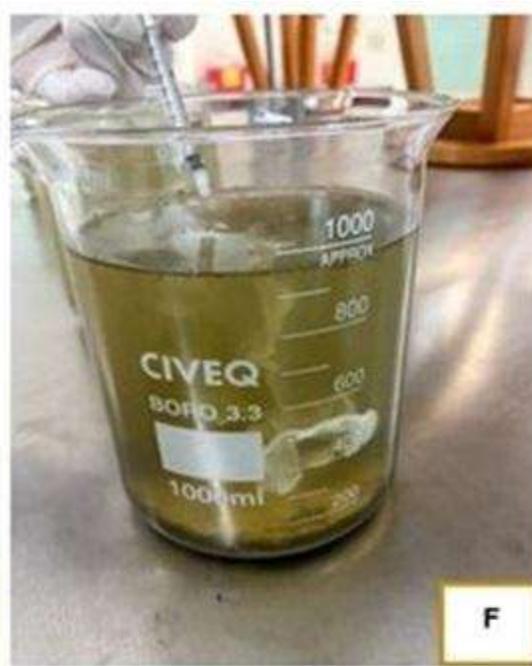


En esta investigación una vez definido el rango de diluciones en las réplicas correspondientes, fue evaluada la toxicidad con las mismas concentraciones para juveniles, machos adultos y hembras adultas de *Hyalella azteca* en conjunto, lo cual permitirá evaluar los efectos del tóxico de una manera integral sobre una especie en seguimiento.





EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.





EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.

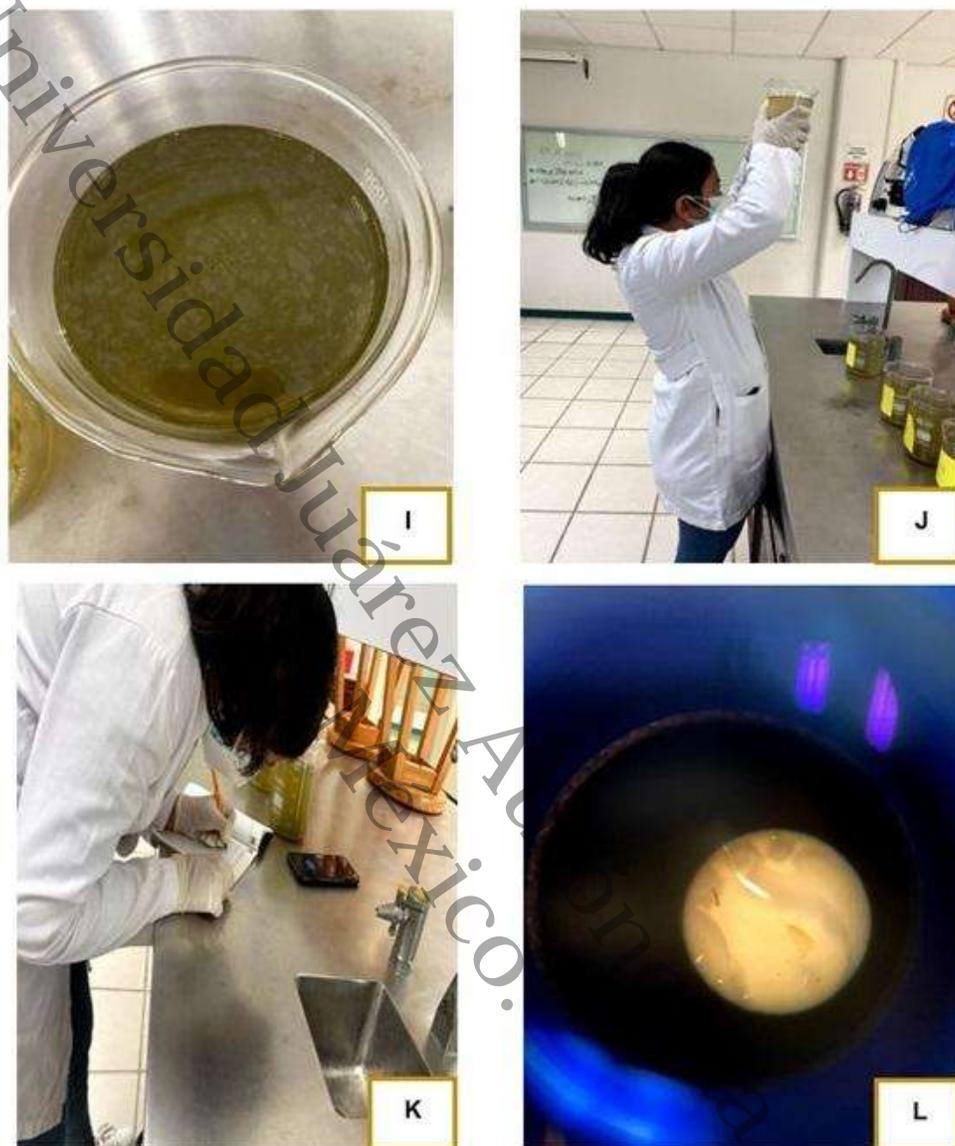


Fig. 14 . A) Etiquetado de vasos precipitado; B) Abertura del recipiente del agroquímico; C-D) Obtención de dosis con ayuda de la jeringa; E-F) Añadido del agrotóxico; G) Clorpirifos Etil en el medio acuoso; H) Mezclado de la sustancia tóxica con un agitador; I) Sustancia incorporada; J) Cuantificación de los organismos muertos; K) Anotación de los resultados y L) Revisión con el estereoscopio de los organismos de *Hyalella azteca* muertos.



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



Durante el tiempo de duración de cada prueba de toxicidad aguda no se suministró ningún tipo de alimento a los organismos en evaluación. El recipiente de cristal con los organismos prueba tuvo un volumen de 1 L, al cual se le agregó el volumen de dilución del agrotóxico correspondiente a cada replica y test.

Los efectos toxicológicos de la sustancia a evaluar fueron estimados con el seguimiento temporal de la inmovilidad y de la mortalidad de los organismos prueba en cada recipiente, durante el intervalo transcurrido de cada replica. Como los ensayos que se emplearon en este estudio fueron pruebas toxicológicas agudas, el tiempo de seguimiento de la mortalidad y la inmovilidad de los organismos prueba, fue inferior a las 24 horas.

Todos los procedimientos de laboratorio relacionados con estas pruebas ecotoxicológicas fueron orientadas a un minucioso seguimiento de medidas de seguridad, que abarcan aspectos de bioseguridad desde el manejo de los organismos prueba hasta la dosificación y dilución del agrotóxico a emplear.

Del mismo modo, todo el material y el personal de laboratorio, mantuvieron medidas de seguridad como limpiarse apropiadamente, antes, durante y después de los procedimientos analíticos, cuidando también un manejo y el transporte eficiente y seguro de los reactivos a emplear.

Asimismo, los residuos generados durante los procedimientos analíticos tuvieron un procedimiento especial en cuanto a su manejo y desecho basado en estrictas normas de seguridad.



#### 6.4. Actividades de gabinete

Para garantizar una cantidad adecuada de los organismos prueba que se emplearon en la presente investigación, se le dio seguimiento a la distribución temporal de *Hyaella azteca* en la laguna Esmeralda.

De esa manera, de acuerdo con un muestreo temporal realizado entre 2018 y 2019, se colectó *Hyaella azteca* en la laguna Esmeralda bajo el siguiente esquema mensual:

**Tabla 8 . Distribución temporal de *Hyaella azteca* en la laguna Esmeralda.**

MES DE COLECTA	NUMERO DE ORGANISMOS
Marzo de 2018	736
Abril de 2018	444
Mayo de 2018	68
Junio de 2018	9
Agosto de 2018	15
Septiembre de 2018	22
Octubre de 2018	38
Noviembre de 2018	43
Diciembre de 2018	157
Enero de 2019	367
Febrero 2019	478

De esa manera, se puede identificar que la especie *Hyaella azteca* se puede encontrar y colectar en número suficiente en la laguna Esmeralda entre enero y marzo de cada año. Por ello, si las colectas para propósitos de ensayos ecotoxicológicos se quisieran realizar entre junio y diciembre se debería complementar la cantidad de organismos necesarios con su colecta en otro ecosistema lacustre.



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



aparte de la laguna Esmeralda. El ecosistema más adecuado sería la laguna El Camarón, también localizada cerca de la Ciudad de Villahermosa.

Para el desarrollo de la presente investigación de carácter experimental, como parte de las actividades de gabinete se acopiaron y revisaron documentos sobre las siguientes temáticas: 1) distribución geográfica del género *Hyaella*; 2) biología y ecología de la especie *Hyaella azteca*; 3) bioensayos toxicológicos realizados en agroquímicos con la especie referida; 4) descripción de los procedimientos de seguridad relacionados con el manejo de esta especie como organismo test para ensayos toxicológicos y 5) evaluación de la toxicidad aguda con el uso de diversas especies de anfípodos.

Para la elaboración de los bioensayos con *Hyaella azteca* se consideraron los lineamientos de la EPA (2000). En dicho documento se presentan los requisitos básicos y experimentales en bioensayos para evaluar la toxicidad en los sedimentos con las siguientes especies de invertebrados: *Chironomus tentans*, *Lumbriculus variegatus* y *Hyaella azteca*.

Para este protocolo experimental se consideraron organismos prueba de *Hyaella azteca* de tres tipos en conjunto: juveniles, machos adultos y hembras adultas no ovígeras. Cada uno de ellos, estuvo conformado de acuerdo con lo señalado para pruebas eco toxicológicas agudas, con un mínimo de 4 a 5 diluciones del agrotóxico y un testigo sin agrotóxico, con 10 organismos en un volumen de agua de 1 L.

Las características de los test de prueba se describen con detalle a continuación:



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Tabla 9 . Características de los test de prueba.

<i>Hyalella azteca</i>	
Muestra 1	Testigo, sin concentración de Agroquímico
Muestra 2	Dilución 1, 0.1. mL de Agroquímico
Muestra 3	Dilución 2, 0.2 mL de Agroquímico
Muestra 4	Dilución 3, 0.3 mL de Agroquímico
Muestra 5	Dilución 4, 0.4 mL de Agroquímico
Volumen de cada Celda Prueba: 1 L	
Número de Organismos por Celda prueba: 10	
Variables de seguimiento: No. De Organismos Muertos e Inmóviles	
Intervalo de Tiempo: menos de 24 horas	

Para el análisis de los resultados obtenidos se realizaron pruebas estadísticas de ANOVA para encontrar diferencias significativas entre cada replica con cada tipo de dosis. Para ello, se empleó el Paquete Estadístico SPSS Ver. 18.

Los resultados que fueron obtenidos con la cuantificación de la mortalidad y la inmovilidad de los organismos prueba en cada celda y test eco toxicológicos, permitieron construir las curvas de dosis respuesta y obtener los valores de DL<sub>50</sub> para el tóxico y el organismo prueba evaluado.

Para el análisis estadístico de la información cuantitativa se empleó el Método Probit propuesto por Finney (1971), para lo cual se considera un análisis de regresión lineal entre lo que este autor denomina unidades Probit o el porcentaje de la mortalidad o la inmovilidad de los organismos prueba y como variable independiente al valor logarítmico de la dosis aplicada.

El Análisis Probit se puede realizar, como cualquier procedimiento de regresión lineal con datos transformados, de manera gráfica por extrapolación de información, de forma manual con el uso de calculadoras personales y con el uso de Software Estadístico como es el caso del Paquete Estadístico SPSS.



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



Para definir la significancia de los análisis de regresión lineal con datos transformados de la dosis de agroquímico que fueron aplicados en cada test, se empleó la Prueba de  $X^2$ .

## 7. RESULTADOS

En la tabla 10, se muestra la mortalidad temporal de la *Hyaella azteca* con respecto a las concentraciones del agroquímico del cacao Clorpirifos Etil que fue empleado en este estudio. De esa manera, se pudo observar que, para la concentración inferior de este tóxico, el tiempo en el que fue alcanzado el 50% de la mortalidad de los organismos prueba estuvo entre un rango de 5 a 10 minutos.

Este corto tiempo en el que se alcanzó el 50% de la mortalidad en los individuos de *Hyaella azteca*, señala la elevada toxicidad del agroquímico empleado en los bioensayos y que además era recomendable reducir la dosis o extrapolar ésta para alcanzar una mayor precisión en la determinación de la Dosis Letal 50 (DL<sub>50</sub>).

**Tabla 10 . Resultados de los Bioensayos con Clorpirifos Etil y mortalidad temporal de *Hyaella azteca*.**

<b>Bioensayos con Clorpirifos y <i>Hyaella azteca</i></b>					
<b>TIEMPO min</b>	<b>TESTIGO</b>	<b>M-1 0.1 mL</b>	<b>M-2 0.2 mL</b>	<b>M-3 0.3 mL</b>	<b>M-4 0.4 mL</b>
5	0	2	3	5	6
10	0	6	6	10	10
15	0	8	8	10	10
20	0	10	10	10	10
25	0	10	10	10	10

En la tabla 11 se presenta los resultados teóricos de extrapolación a partir de una dosis mínima de 0.05 mL del tóxico y se incluyen los datos de la mortandad de los organismos prueba para un tiempo mayor (de hasta 40 minutos), que sería el tiempo en que se alcanzaría el 100% de la mortalidad con dicha concentración hipotética.

Con los resultados cuantitativos de las tablas 10 y 11, se determinaron de acuerdo con el Método Probit las curvas de regresión logarítmica que fueron empleadas para determinar el rango de valores de la DL<sub>50</sub> para Clorpirifos Etil con el uso de *Hyaella azteca* como especie de predicción.



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



Los valores de la DL<sub>50</sub> obtenidos con los bioensayos toxicológicos realizados señalaron que este parámetro de toxicidad se puede situar entre un rango 0.05 y 0.08 mL de Clorpirifos, lo cual indicó que es inferior al límite mínimo de la dosis tóxica empleada y demostró los requerimientos de una dosis extrapolada a partir de la dosis mínima que fue utilizada en este estudio. La tabla 12 presenta los resultados de DL<sub>50</sub> que fueron obtenidos con cada tiempo y las dosis en los se alcanzó el 50% de la mortalidad en la especie prueba.

**Tabla 11 . Resultados del Bioensayo con Interpolación de la concentración.**

Tiempo (Min)	Testigo	Muestra (0.05 mL)	Muestra 1 (0.1 mL)	Muestra 2 (0.2 mL)	Muestra 3 (0.3 mL)	Muestra 4 (0.4 mL)
5	0	1	2	3	5	6
10	0	3	6	6	10	10
15	0	4	8	8	10	10
20	0	5	10	10	10	10
25	0	7	10	10	10	10
30	0	8	10	10	10	10
35	0	9	10	10	10	10
40	0	10	10	10	10	10

**Tabla 12 . Valores de la DL<sub>50</sub> obtenidos con las dosis empleadas en el bioensayo toxicológico.**

TIEMPO DEL 50% DE LA MORTALIDAD	DOSIS TOXICA (mL)	RANGO DL <sub>50</sub> mL
5 minutos	0.3	0.3
10 minutos	0.08	0.08
15 minutos	0.06	0.06
20 minutos	0.05	0.05



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.I.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



25 minutos	0.05	0.05
<b>PROMEDIO DE DL<sub>50</sub> PARA CLORPIRIFOS</b>		<b>0.06</b>
<b>RANGO DE DL<sub>50</sub> PARA CLORPIRIFOS</b>		<b>0.05-0.08</b>

Tabla 13. Clasificación de la toxicidad de los plaguicidas. Tomado de Naserabad et al. (2015).

Grados de toxicidad	DL <sub>50</sub> (mg/L)
Extremadamente tóxico	< 0.1
Muy tóxico	0.1-1
Moderadamente tóxico	01-10
Ligeramente tóxico	10-100
Prácticamente no tóxico	> 100

En las figuras 15-27 se presentan las curvas del Análisis Temporal de la Mortalidad y las de regresión logarítmica obtenidas con la Metodología Probit para definir los valores de DL<sub>50</sub> que se presentaron en la Tabla 12.

Tiempo de 50% de la Mortalidad, Dosis 0.05 mL





Fig. 15 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad con la Dosis de Extrapolación (0.05 mL).

Tiempo de 50% de la Mortalidad, Dosis 0.1 mL

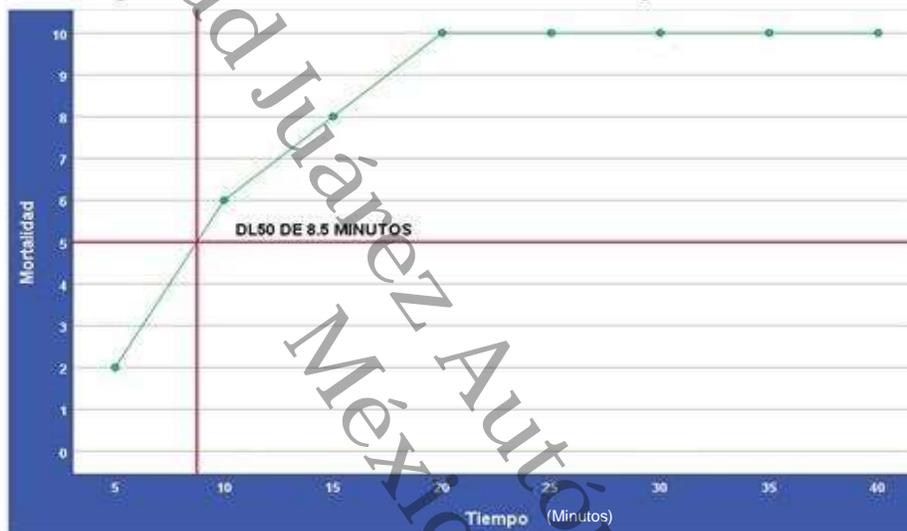


Fig. 16 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis de 0.1 mL.



Tiempo de 50% de la Mortalidad, Dosis 0.2 mL



Fig. 17 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis de 0.2 mL.

Tiempo de 50% de la Mortalidad, Dosis de 0.3 mL

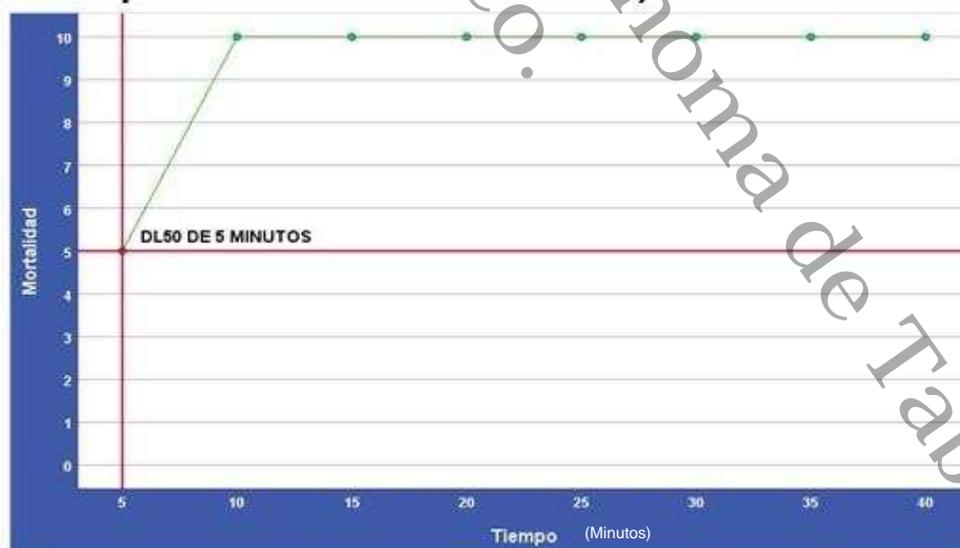


Fig. 18. Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis de 0.3 mL.

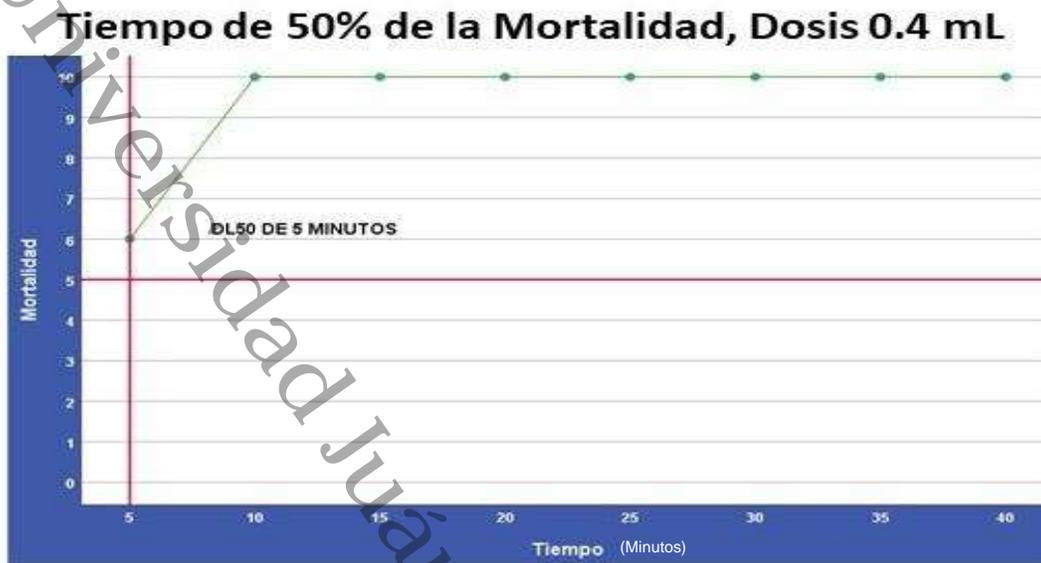


Fig. 19 . Tiempo en el que se alcanzó 50% de la Mortalidad para la Dosis 0.4 mL.

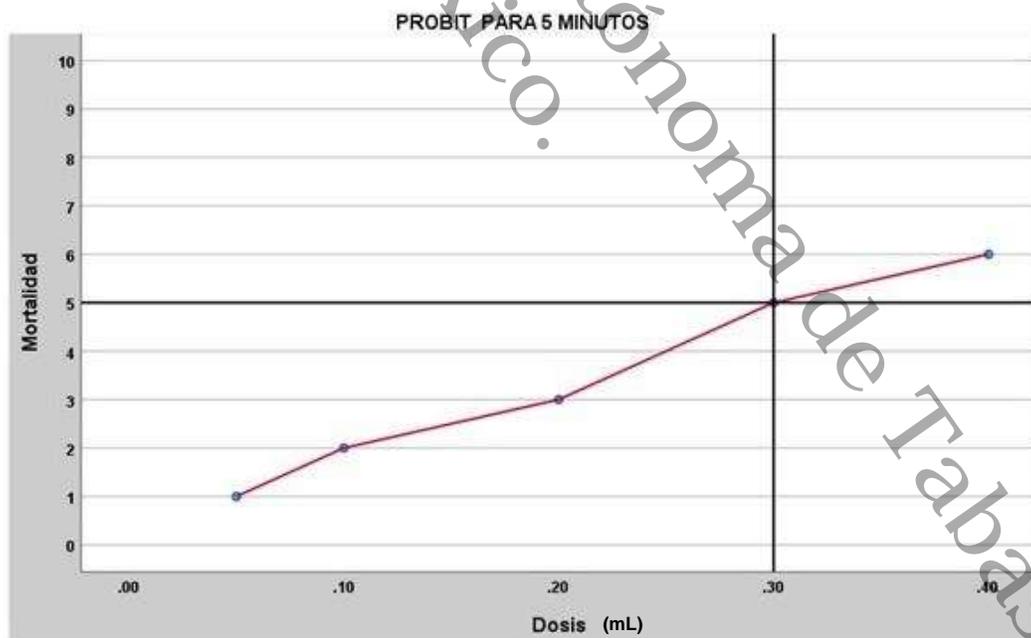


Fig. 20. Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 5 minutos.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Fig. 21 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 10 minutos.

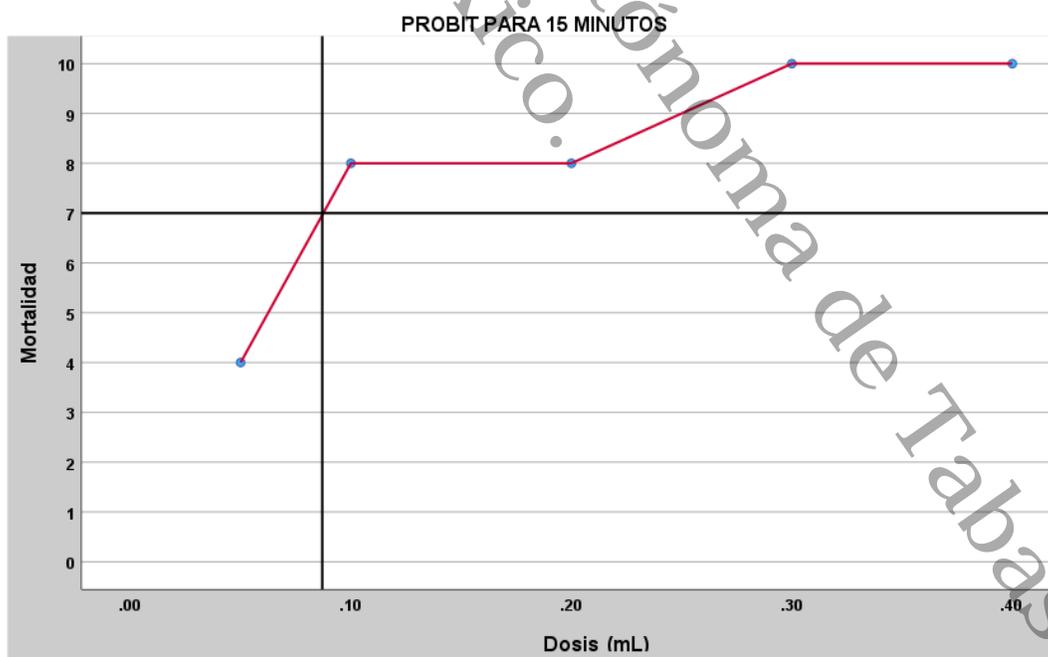


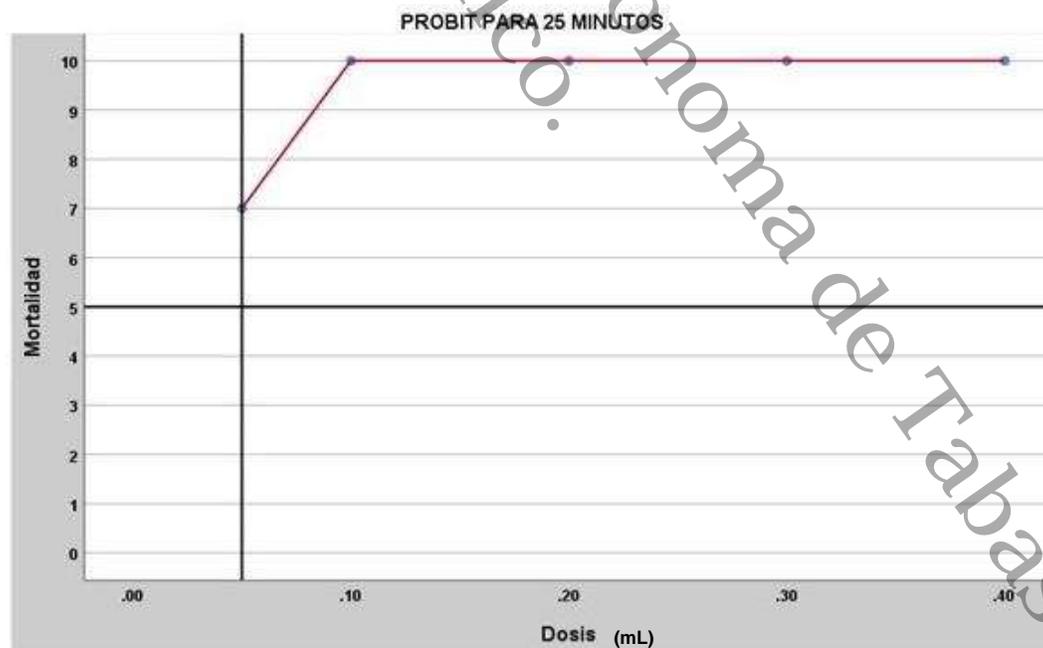
Fig. 22 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 15 minutos.



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Fig. 23 . Curva Logaritmica del Análisis Probit para un Tiempo de 20 minutos.





EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



Fig. 24 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 25 minutos.

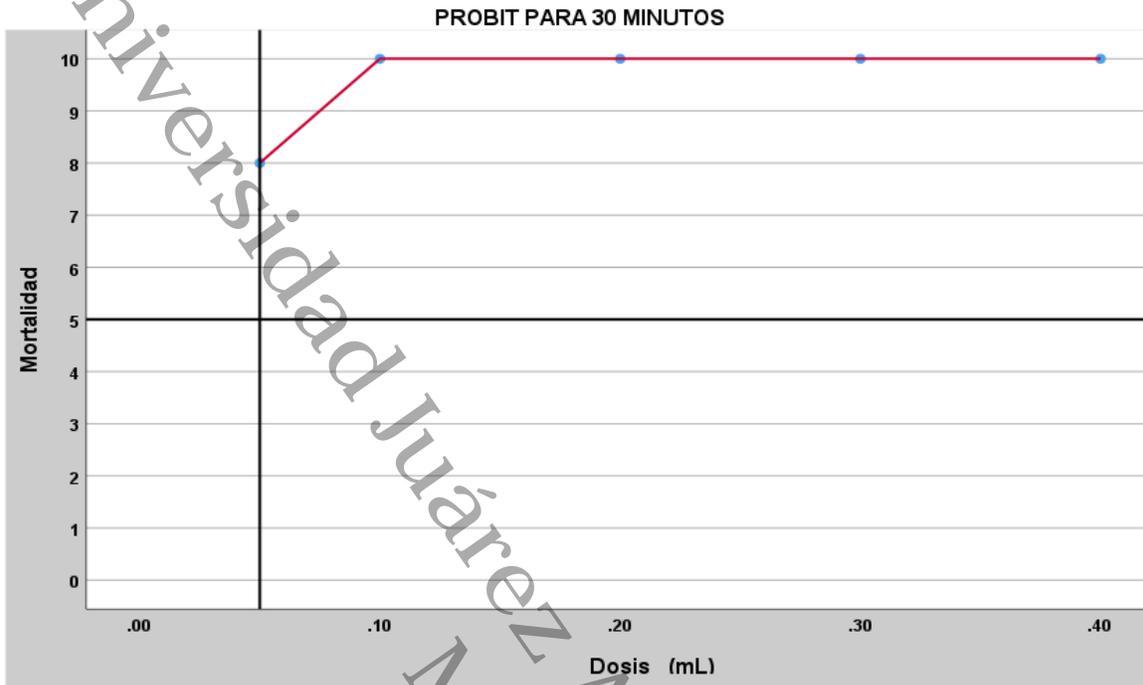


Fig. 25 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 30 minutos

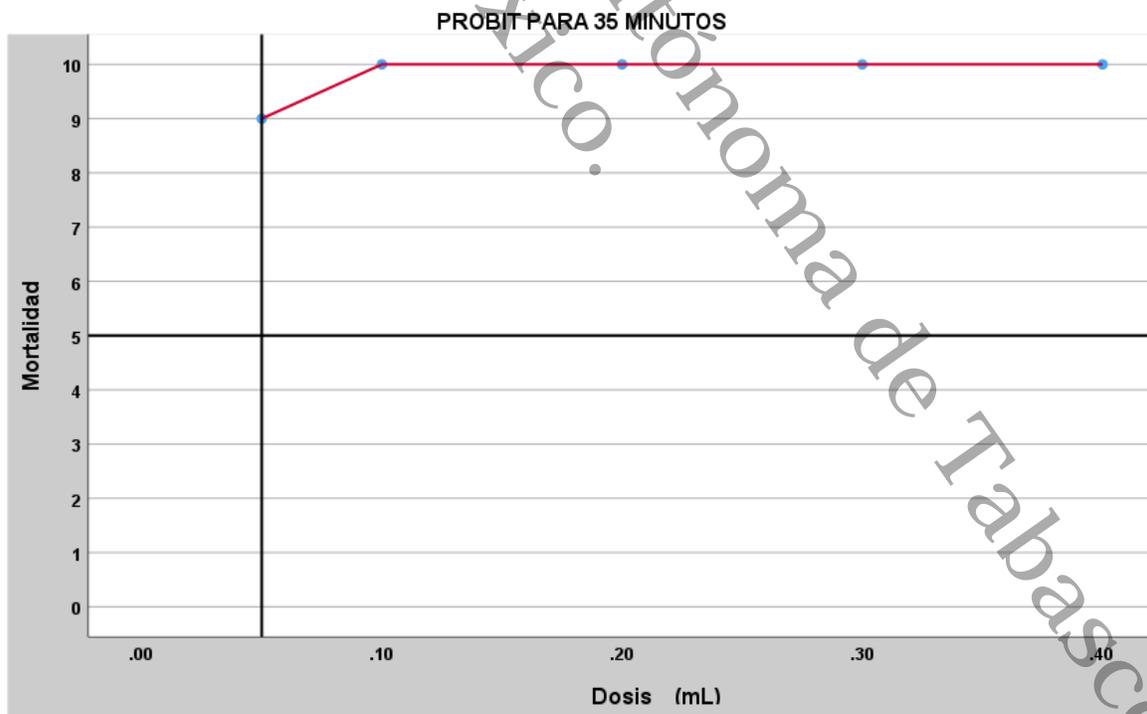




Fig. 26 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 35 minutos.

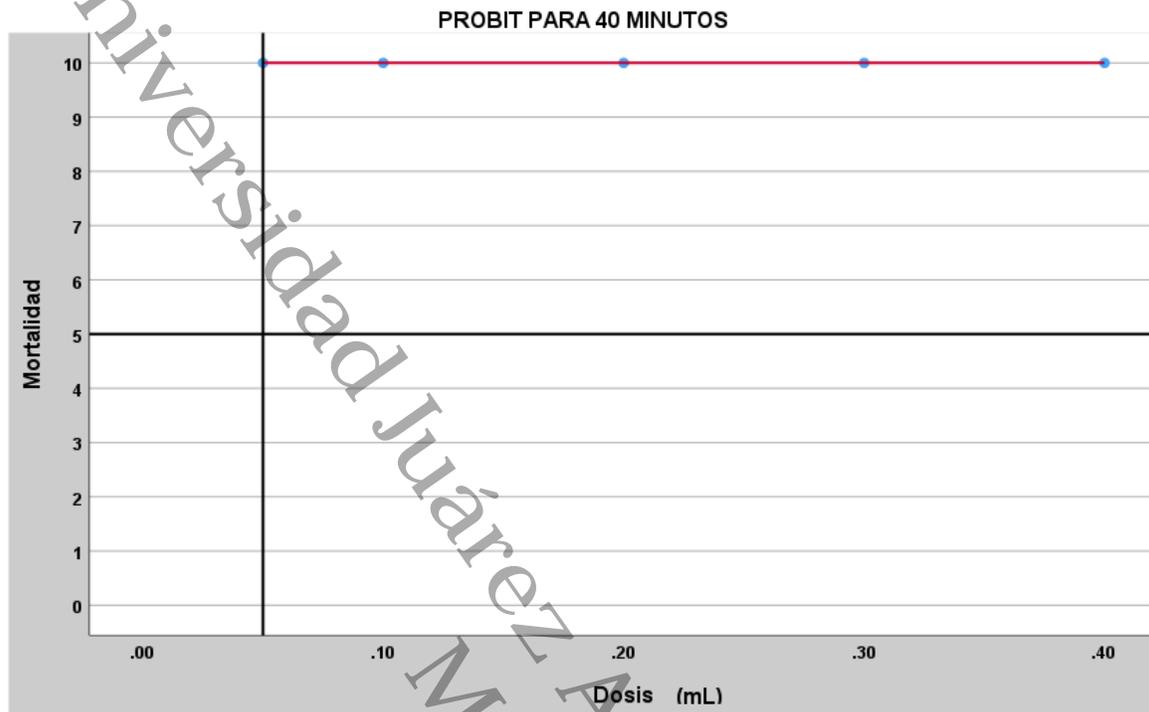


Fig. 27 . Curva Logarítmica del Análisis Probit para un Tiempo de 40 minutos.

## 8. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo el  $DL_{50}$  para Clorpirifos etil con *Hyalella Azteca*, fue comparado con otros estudios en el cual utilizaron el mismo agroquímico empleado en este trabajo, los resultados de otros trabajos se expresan en mg/L por lo cual la  $DL_{50}$  del presente estudio tendría un valor de 6.84 mg/L, cuyo valor es más bajo al del estudio realizado con el organismo *Capitella sp* donde su  $DL_{50}$  es 7.46 mg/L a 48 h (Calderón *et al.*, 2019), un trabajo en el que se determina la toxicidad del Clorpirifos con el molusco *Mytilus galloprovincialis* presenta un  $DL_{50}$  de 22.5 mg/L a 96 h mucho mayor al de este estudio siendo 3 veces más grande (Serrano *et al.*, 1995), podemos observar que el organismo utilizado en nuestro estudio es menos tolerante al insecticida que los organismos mencionadas anteriormente.

Por el contrario algunas especies como los peces *Odontesthes bonariensis* (López *et al.*, 2018) y *Anabas testudineus* (Tam *et al.*, 2015) presentan un  $DL_{50}$  de 0.007 mg/L y 2.00 mg/L a 48 h un valor más bajo al obtenido en este trabajo, otra especie con valores bajos son las lombrices *Limnodrilus hoffmeisteri* en el cual el  $DL_{50}$  es 1.70 mg/L a 24 horas (Iannacone *et al.*, 2000), al igual que los peses los cangrejos *Spiralothelphusa hydrodroma* presentaron más sensibilidad al agroquímico ya que



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyaella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



obtuvieron un DL<sub>50</sub> menor de 0.120 mg/L (Senthilkumar *et al.*, 2007), los camarones *Palaemonetes pugio* presentan un valor de DL<sub>50</sub> de 0.00037 mg/L (Key y Fulton 1993) mucho menor al de este trabajo.

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede decir que *Hyaella Azteca* es una especie medianamente tolerante o resistente al Clorpirifos en comparación con especies como moluscos y ciertos tipos de lombrices o invertebrados por su parte los vertebrados acuáticos presentaron menor resistencia a excepción de los camarones y una especie de oligoquetos estudiados anteriormente. Por lo cual los resultados de DL<sub>50</sub> también se pueden usar para conseguir la clasificación de la toxicidad del insecticida evaluado con *Hyaella Azteca* y para evaluar su riesgo ecológico (Calderón *et al.*, 2019), debido a esto el insecticida Clorpirifos etil se clasificó como moderadamente toxico de acuerdo a la tabla 13.

Es importante mencionar que si bien es fundamental la comparación entre diferentes organismos presentan problemas, ya que no se usan las mismas dosis de concentración y los ensayos se realizan en diferentes periodos de tiempo para cada uno de los organismos, los cuales podrían ocasionar distintos efectos negativos (Calderón *et al.*, 2019), otros factores que son importantes mencionar son si las especies prueba son neonatos, juveniles, adultos e incluso su sexualidad y la fisiología, pueden determinar cómo responden las diferentes especies (Uc y Delgado. 2015).

## **9. CONCLUSIÓN**

Con base en los resultados obtenidos en la investigación de carácter toxicológico se puede concluir que, aunque solamente se empleó un solo agroquímico de tipo organofosforado (el Clorpirifos Etil) que es usado para el control de insectos plaga en las plantaciones de cacao del estado de Tabasco, los resultados obtenidos demostraron su elevada toxicidad.

Los cortos tiempos obtenidos en los bioensayos con el anfípodo nativo *Hyaella azteca*, en los que se presentó el 50% de la mortalidad en los ensayos realizados en periodos de tiempo inferiores a los 10 minutos y la concentración la DL<sub>50</sub> que fue obtenida con el uso del denominado Análisis Probit propuesto por Finney (1971) cuyo valor fue definido en un rango entre 0.05 y 0.084 mL de Clorpirifos Etil, demostraron la elevada toxicidad de este agroquímico.

Con ello también se puede justificar la importancia que tiene la normatividad ambiental sobre el uso y la reducción de este tipo de sustancias en las plantaciones de cacao del trópico húmedo tabasqueño, lo cual dotaría de sustentabilidad ambiental a esta actividad agro cultural y permitiría reducir los efectos sobre la salud



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



de los productores y de sus familiares, así como los generados en relación con la biota, la vegetación, el suelo y el agua.

## 10. RECOMENDACIONES

Los agroquímicos se emplean en todo el orbe para proteger y mejorar los cultivos. Así mismo los fertilizantes se aplican para obtener mejores rendimientos de cultivos que están protegidos contra los insectos y las enfermedades con el empleo oportuno de plaguicidas (OIT, 1993).

Con la finalidad de proporcionar información a las personas relacionadas al manejo de agroquímicos se presentan medidas de seguridad que deben implementar para un manejo más seguro, así como los efectos adversos que provocan en la salud los plaguicidas (SADER, 2019).

Los afectos y síntomas de la intoxicación causada por plaguicidas suelen ser inespecíficos y algunos incluso dicen que son muy semejantes a los de un resfriado o alergia. Estos síntomas aparecen tiempo después de que el individuo se expuso al agroquímico, en lo habitual puede garantizar que aparecen más rápidamente cuando se inhaló que ante el contacto por la piel, que puede indicar síntomas un poco más tarde. Los síntomas estarán sujetos al compuesto químico y de la dosis recibida (Suarez y Sani, 2012). En general pueden ser algunos de los siguientes:

1. Mareos
2. Dolor de cabeza
3. Sudación
4. Temblor, cansancio generalizado
5. Con exposiciones muy importantes pueden llegar a presentarse convulsiones (Suarez y Sani, 2012).

En caso de haber sido expuesto a los plaguicidas será necesario la atención médica el 911 es el número de emergencias en toda situación de intoxicación es imprescindible pedir ayuda en caso de solicitar una ambulancia o servicio de paramédicos, así mismo es de suma importancia notificar al número de SINTOX y ATOX son los programas que brindan un servicio médico que proporcionan asesoría gratuita las 24 horas para emergencias vinculadas con el reconocimiento de los síntomas (SADER, 2019).



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca S.I.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.**



Por ello es necesario el uso de equipos y dispositivos protectores debe emplearse en un programa de protección personal que asegure el manejo de la protección en las condiciones de uso previstas y quienes tengan que llevarla tendrán la obligación de saber utilizarla correctamente en su actividad laboral (Zambrano, 2009). Los siguientes equipos de protección personal son básicos para preparación y aplicación de agroquímicos:

1. Guantes de nitrilo que lleguen hasta el codo
2. Protección facial para salpicaduras más protector ocular (lentes)
3. Botas de goma deben de ir por dentro del pantalón
4. Sombrero impermeable
5. Delantal plástico
6. Protección respiratoria con filtro para gases orgánicos
7. Ropa de Trabajo (de algodón con manga larga) (Zambrano, 2009).

Debemos igual tener ciertos cuidados posteriores a la aplicación de los agroquímicos. Por ello se incluyen a continuación las siguientes recomendaciones:

1. Cambiarse de ropa al finalizar el trabajo. No puede tener una sola prenda de ropa que sea la misma del trabajo a la que utiliza fuera de él, por tanto, se debe disponer de guardarropas y vestuario
2. Lavar la ropa contaminada lo antes posible y usar abundante jabón no mezclarse con el resto de ropa de calle y familiar.
3. El remojo en agua ayuda el desprendimiento del plaguicida del tejido. Se sugiere triple remojo; el remojo se tendrá que hacer con guantes preferencia de nitrilo.
4. Lavar con detergente a temperatura elevada (60° C o más para el algodón).
5. Volver a lavar todo con agua limpia.
6. Secar la ropa al aire
7. Las máscaras y anteojos se deben lavar cuidadosamente posterior a su uso para remover todo rastro de agroquímico (Zambrano, 2009).

Por lo tanto, todos los trabajadores que trabajan con pesticidas en la producción agrícola deben usar equipo de protección personal completo para prevenir accidentes y enfermedades y mejorarlas condiciones de trabajo, por lo que el uso de equipo de protección personal (EPP) es importante.



## 11. LITERATURA CITADA

1. **Baudilio Rondón, J.B. y L. J. Cumana Campos.** (2005). Revisión Taxonómica del género *Theobroma* (Sterculiaceae) en Venezuela. *Acta Bot. Venez.* 28(1):113-133
2. **Calderón Ruiz, A., Delgado Blas, V. H., & Uc Peraza, R. G.** (2019). TOXICIDAD AGUDA DEL MALATION 500® Y TYSON 4E® EN *Capitella* sp. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 35(3), 565-574.
3. **CICLOPLAFEST.** 1991. Catálogo Oficial de Plaguicidas. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 493 pp.
4. **Colla, M. F.** (2016). Estudio de poblaciones de *Hyaella Smith* 1874, (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae), en ambientes acuáticos de la Reserva de Usos Múltiples Isla Martín García, provincia de Buenos Aires (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
5. **Cortez Madrigal, H., M.C. Martínez López, F. Reyes Izquierdo y L. Ortega Arenas.** (2008). Primer registro de *Lecanoideus floccimus* (Hemiptera: Aleyrodidae) en cacao de Tabasco. *Revista Colombiana de Entomología.* 34(1):33-40
6. **Chávez García, E. y M. Castelán Estrada.** (2019). Evaluación campesina del manejo agroecológico del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tabasco, México. *Agroproductividad.* 12(7):43-49
7. **De los Ríos Escalante, P., J. Morrone y R.R. Rivera.** (2012). Distribution patterns of the South American species of *Hyaella* (Amphipoda: Hyaellidae). *Gayana.* 76(2):153-161
8. **ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.** (2000). Method for Measurement the Toxicity and Bioaccumulation in Sediment-associated



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO  
CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.),  
A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO  
(*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



- Contaminants with Freshwater Invertebrates. Report EPA 600/R-99/64, Second Edition. 213 pp.
9. **Finney, D.J.** (1971). Analysis Probit. Cambridge University. Second Edition. 333 pp.
  10. **Florencia Colla, M.** (2015). Estudio de poblaciones de *Hyalella* Smith 1874 (Crustacea, Amphipoda, Dogielinotidae) en ambientes acuáticos de la Reserva de Usos Múltiples Isla Martín García, Provincia de Buenos Aires. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Plata. 110 pp.
  11. **Gerónimo Cruz, A. M.** (2014). Fluctuación poblacional y período de ataque de *Hemeroblemma* ssp. en el cultivo de Cacao, en la Chontalpa, Tabasco. Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados. 28 pp.
  12. **Gerónimo López, V., S. Sánchez Soto, N. Bautista Martínez, N. Pérez de la Cruz y J.H.R. Mendoza Hernández.** (2013). Fluctuación poblacional de *Clastoptera laenata* (Hemiptera: Clastopteridae) en el cultivo del cacao, Tabasco, México. *Fitosanidad*. 17(3):131-137
  13. **González, V. W.** (2005). Cacao en México; competitividad y medio ambiente con alianzas (Diagnóstico rápido de producción y mercadeo) United States Agency International Development. Chemonics International Inc. 93 pp.
  14. **González, E.R. y L. Watling.** (2002). Redescription of *Hyalella azteca* from its type locality, Veracruz, México (Amphipoda: Hyalellidae). *Journal Crustacean Biology*. 22(1):173-183
  15. **Guzmán-Plazola, P., Guevara-Gutiérrez, R. D., Olgún-López, J. L., & Mancilla-Villa, O. R.** (2016). Perspectiva campesina, intoxicaciones por plaguicidas y uso de agroquímicos. *Idesia (Arica)*, 34(3), 69-80.
  16. **Hernández Acosta, L.** (2012). Diagnóstico del uso y distribución de plaguicidas utilizados frecuentemente en cultivos de caña de azúcar y su posible efecto ambiental en el municipio de Cárdenas, Tabasco, México. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Ambiental, División Académica de Ciencias Biológicas-UJAT. 97 pp.



17. **Hernández Gómez, E., J. Hernández Morales, C.H. Avendaño Arrazate, G. López Guillén, E.R. Garrido Ramírez, J. Romero Napoles y C. Nava Díaz.** (2015). Factores socioeconómicos y parasitológicos que limitan la producción de cacao en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 33(2):232-246
18. **INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO.** (2015). Manejo fitosanitario del cacao (*Theobroma cacao* L.). Medidas para la temporada invernal. 43 pp.
19. **Iannacone J., Alvaríño L., Caballero C. y Sánchez J.** (2000). Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos. *Gayanna* (Concepc.) 64 (2).
20. **Jergentz, S., H. Mungi, y R. Schulz.** (2004). Runnof-related Endosulfan contamination and aquatic invertebrate response in rural basins near Buenos Aires, Argentina. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46:345-352
21. **Jiménez León, A. de J.** (2013). Diagnóstico situacional del uso de plaguicidas en zonas cacaoteras del municipio de Comalcalco, Tabasco, México. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Ambiental, División Académica de Ciencias Biológicas-UJAT. 216 pp.
22. **Key P.B. y Fulton M.H.** (1993). Lethal and sub-lethal effects of chlorpyrifos exposure on adult and larval stages of the grass shrimp *Palaemonetes pugio*. *J. Environ. Health Sci.* 28, 621-640
23. **Larrain, A.** 1995. Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: Importancia de los Bioensayos de Toxicidad. *Revista Ciencia y Tecnología del Mar. Cona* (Nº Especial):39-47.
24. **Lizotte, R.E., S.S. Knight, F.D. Shields y C.T. Bryant.** (2009). Effect on Atrazine, Metholachlor and Fipronil Mixture on *Hyalella azteca* (Saussure) in a Modified Backwater. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 83:836-840
25. **López Aca, V., Gonzalez, P. V., & Carriquiriborde, P.** (2018). Lethal and sublethal responses in the fish, *Odontesthes bonariensis*, exposed to



- chlorpyrifos alone or under mixtures with endosulfán and lambda-cyhalothrin. *Ecotoxicology*, 27, 968-979.
26. **López Andrade, P. A., M.A. Ramirez Guillermo y C. Hernández Hernández.** (2016). Propagación y Manejo de Plantaciones de Clones de Cacao en Tabasco. INIFAP, Campo Experimental Huimanguillo, Tabasco. 40 pp.
27. **López Ocaña, M. K.** (2013). Estudio sobre la seguridad y manejo de los Equipos de Protección Personal (EPP), empleados en la manipulación de plaguicidas de la zona cacaotera del municipio de Comalcalco, Tabasco, México. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Ambiental. División Académica de Ciencias Biológicas, UJAT. 159 pp.
28. **Lowry, J.K. & A.A. Myers.** (2013). A phylogeny and classification of the Senticaudata subord. nov. (Crustacea: Amphipoda). *Zootaxa*. 3610(1):1-80
29. **Naserabad S.S., Mirvaghefi A., Gerami M.H. y Farsani H.G.** (2015). Acute toxicity and behavioral changes of the gold fish (*Carassius auratus*) exposed to malathion and hinosan. *Iran. Journ. Toxicol.* 8 (27), 1203-1208.
30. **Mac Loughlin, T. M.** (2015). Efectos biológicos de plaguicidas en cuerpos de agua asociados a agroecosistemas de la Provincia de Buenos Aires.
31. **Marrón Becerra, A.** (2017). Estudio comparativo del complejo *Hyalella azteca* (De Saussure 1858) en tres estados de México: Ciudad de México, Veracruz y Quintana Roo. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 139 pp.
32. **Martínez Gerónimo, M.K., J.L. Cruz Cisneros y L. García Hernández.** (2008). An comparison of the response of *Simocephalus mixtus* (Cladocera) and *Daphnia magna* a freshwater contaminated sediments. *Ecotoxicology and Security Environmental*. 71(1):26-31
33. **Montalvo Urgel. H., A.J. Sánchez, R. Florido y A. Macossay Cortes.** (2010). Lista de Crustáceos distribuidos en troncos hundidos en el humedal tropical Pantanos de Centla, al sur del Golfo de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 81:121-131



34. **Motamayor, J.C., A.M. Rusterucci, P.A. López, C.F. Ortiz, A. Moreno y C. Lanaud.** (2002). Cacao Domestication I. Origin of cacao cultivated by the Mayas. *Heredity*. 89:380-386
35. **OIT.** (1993). Guía sobre seguridad y salud en el uso de productos agroquímico. 101 pp.
36. **Ortiz, I. y S. Sánchez.** (2008). Especies de Lepidóptera (Insecta) capturadas con un tipo de trampa durante la etapa principal de fructificación del cacao, en La Chontalpa, Tabasco. En: XX Reunión Científica, Tecnológica, Forestal y Agropecuaria. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Villahermosa, Tabasco. 366-376 p.
37. **Peluso, L., A. Giusto, G.D. Bulus Rossini, L. Ferrari, A. Salibian y A.E. Ronco.** (2011). *Hyaella curvispina* (Amphipoda) as test organism in laboratory toxicity testing of Environmental samples. *Fresenius Environmental Bulletin*. 20:372-376
38. **Peralta MA, Isa Miranda AV.** (2019). Una nueva especie de *Hyaella* (Crustacea, Amphipoda, Hyaellidae) de la provincia biogeográfica de la Puna en Argentina.
39. **Priego Castillo, G.A., A. Galmiche Tejeda, M. Castelam Estrada, O. Ruiz Rosado y A.I. Ortiz Ceballos.** (2009). Evaluación de la sustentabilidad de dos sistemas de producción de cacao. Estudios de caso en unidades de producción rural, Comalcalco, Tabasco. *Universidad y Ciencia*. 25(1):39-67
40. **Ramírez Martínez, M.A.** (2007). Ambiente, cultura y sociedad: los productores de cacao de pequeña escala de José María Pino Suárez, Comalcalco, Tabasco. Tesis Doctorado en Antropología Social. Universidad Iberoamericana. 407 pp.
41. **Reyes, G., Chaparro-Giraldo, A., & Ávila, K.** (2010). Efecto ambiental de agroquímicos y maquinaria agrícola en cultivos transgénicos y convencionales de algodón. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(2), 151-162.



42. **SADER.** (2019). Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo. 80 pp.
43. **Sánchez, A. J., Salcedo, M. Á., Macossay-Cortez, A. A., Feria-Díaz, Y., Vázquez, L., Ovando, N., & Rosado, L.** (2012). Environmental quality of the La Polvora urban lagoon in the Grijalva river watershed. *Tecnología y ciencias del agua*, 3(3), 143-152.
44. **Senthilkumar P., Samyappan K., Jayakumar S. y Deecaraman M.** (2007). Effect of chlorpyrifos on the nutritive value in a freshwater field crab, *Spiralothelphusa hydrodroma*. *Res. J. Agric. Biol.* 3 (6), 760-766.
45. **Serrano R., Hernández F., Peña J.B., Dosda V. y Canales J.** (1995). Toxicity and bioconcentration of selected organophosphorus pesticides in *Mytilus galloprovincialis* and *Venus gallina*. *Arch. Environ. Con. Tox.* 29 (3). 284-290.
46. **Suarez, A., & Sani, H.** (2012). *Plan de seguridad industrial en una planta de agroquímicos* (Doctoral dissertation, Tesis de grado para optar al título de Ingeniero Químico, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química, Guayaquil, Ecuador).
47. **Tam N.T., Berg H., Tuyen P. y Van-Cong N.** (2015). Effect of chlorpyrifos ethyl on acetylcholinesterase activity in Climbing Perch (*Anabas testudineus* Bloch, 1972). *Arch. Environ. Con. Tox.* 69 (4), 515-524.
48. **Uc-Peraza R.G. y Delgado-Blas V.H.** (2015). Acute toxicity and risk assessment of three commercial detergents using the polychaete *Capitella* sp. C from Chetumal Bay, Quintana Roo, Mexico. *Int. Aquat. Res.* 7 (4), 251-261.
49. **Väinölä, R., J.D.S. Witt, M. Grabrowski, J.H. Bradbury, K. Jazdzewski and B. Sket.** (2008). Global biodiversity of amphipods (Amphipoda; Crustacea). *Hidrobiologia*. 595:241-245
50. **Violante Huerta, M.** (2020.). Primer registro del anfípodo dulceacuicóla *Hyalella azteca* (Amphipoda: Senticaudata) en Cuautla, Morelos. *Hidrobiológica*. 30(2):177-179



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



51. Walsh. S., I. Gosselin, D. Lee y M. Stuart. (2019). The Establishment of a New Culture of *Hyalella azteca* that would Permit Toxicity Tests o be conducted on low-ionic strength waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 38(3):585-590
52. Zambrano Echenique, M. L. (2009). Nociones básicas sobre riesgos toxicológicos en el sector agrícola tabacalero.

12. ANEXOS

ANEXO 1. AGROQUÍMICOS DE CULTIVOS PERENNES DE TABASCO CICLOPLAFEST (1991).

TIPO	CACAO	CAÑA	COCO	PLATANO	NARANJA	LIMÓN	PIMIENTA	PALMA DE ACEITE
INS					*			
INS	*	*		*	*			
INS		*		*	*			
INS		*		*	*	*	*	
INS		*		*	*	*	*	
HER		*		*	*			
HER		*		*	*			
HER		*		*	*			
HER		*		*	*	*	*	
HER		*		*	*	*	*	
HER		*		*	*	*	*	
HER		*		*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	
FUN	*			*	*	*	*	
FUN	*			*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	
FUN	*			*	*	*	*	
FUN	*			*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	
FUN				*	*	*	*	



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



AGROQUÍMICO	TIPO	CACAO	CAÑA	COCO	PLATANO	NARANJA	LIMÓN	PIMIENTA	PALMA DE ACEITE
Sulfato tribásico de cobre	FUN	*			*	*	*		
Tiabendazol	FUN				*				
Tridemorf	FUN				*				
Etoprofos	INS		*		*				
Fenamifos	NEM	*			*		*		
Pirimicarb	INS	*	*						
Azinfos Metílico	INS		*		*				
Clorpirifos etil	INS	*	*		*				
Cyflutrin	INS		*						
Disulfoton	INS		*						
Endosulfan	INS		*						
Fonofos	INS		*						
Forato	INS		*						
Fosfamidon	INS		*				*		
Malatión	INS		*				*		
Metidation	INS		*				*		
Monocrotofos	INS	*	*						
Ometoato	INS		*				*		
Paration etílico	INS		*				*		
Paration metílico	INS	*	*				*		
Vamidothion	INS		*						
Asulam	HER		*						
Atrazina	HER		*						
Dicamba	HER		*						
Diquat	HER		*						
Hexazinoma	HER		*						
Metribuzin	HER		*						



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



AGROQUÍMICO	TIPO	CACAO	CAÑA	COCO	PLATANO	NARANJA	LIMÓN	PIMIENTA	PALMA DE ACEITE
Msma	HER		*			*	*		
Picloram	HER		*						
Simazina	HER		*			*	*		
Triadimefon	Sistematico de contacto		*						
Aceite mineral	Acaricida					*	*		
Carbofenotion	INS					*	*		
Dicofol	Acaricida de contacto					*	*		
Dimetoato	INS					*	*		
Epn	INS					*	*		
Fention	INS					*	*		
Fosalone	INS					*	*		
Naled	INS					*	*		
Oxidemeton metil	INS					*	*		
Propargite	Acaricida					*	*		
Quinometonato	Acaricida					*	*		
Triclorfon	INS					*	*		
Eptc	HER					*	*		
Fluazifop P-butil	HER					*	*		
Napropamida	HER					*	*		
Sethoxydim	HER					*	*		
Indaziflan	HER								*
Azufre elemental	Acaricida					*	*		
Captafol	FUN					*	*		
captan	FUN					*	*		



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



AGROQUIMICO	TIPO	CACAO	CAÑA	COCO	PLATANO	NARANJA	LIMÓN	PIMIENTA	PALMA DE ACEITE
Folpet	FUN						*		
Fosetil-AI	FUN					*	*		
Zineb	FUN					*	*		
Azinfos metílico	INS					*	*		
Metomilo	INS					*	*		
Ometoato	INS					*	*		
Glufosinato de amonio	HBC								*
Clethodim	HBC								*
Haloxifop-r-metil ester	HBC								*
Saflufenacil	HBC								*
Pendimetalin	HBC								*
Etiprol	INS								*



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao L.*), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca S.l.*) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



ANEXO 2. AGROQUÍMICOS DE CULTIVOS PERENNES EN TABASCO PROPUESTO POR EL ING. MOISÉS RAMOS ALARCÓN (2023).

AGROQUÍMICO	TIPO	CACAO	CAÑA	COCO	PLATANO	NARANJA	LIMÓN	PIMIENTA	ACEITE
Abamectina	INS					*	*		
Aldicarb	INS				*				
Carbofuran	INS		*						
Terbufos	INS		*						
Ametrina	HER		*						
Diuron	HER		*						
Glifosato	HER		*				*		
Paraquat	HER		*				*		
Benomilo	FUN		*				*		
Carbendazim	FUN				*		*		
Clorotalonil	FUN				*				
Hidróxido cúprico	FUN	*							
Mancozeb	FUN				*				
Oxicloruro de cobre	FUN	*							



EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL AGROQUÍMICO CLORPIRIFOS ETIL, DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.), A PARTIR DE BIOENSAYOS CON EL CRUSTÁCEO (*Hyalella azteca* S.I.) EN CENTRO, TABASCO, MÉXICO.



AGROQUÍMICO	TIPO	CACAO	CAÑA	COCO	PLATANO	NARANJA	LIMÓN	PIMIENTA	PALMA DE ACEITE
Sulfato tribásico de cobre	FUN	•				•	•		
Tiabendazol	FUN				•				
Clorpirifos etil	INS					•			
Paratión metílico Prohibido	INS	•	•						
Azufre elemental	Acaricida					•	•		
Fosetil-AI	FUN	•				•	•		
Glufosinato de amonio	HBC								•
Azinfos metílico ya no se usa	INS	•					•		
Pirimicarb no se usa en cacao	INS								
Monocrotofos se usaba en cacao	INS								