



ECOTOX – Brazil

J. Braz. Soc. Ecotoxicol., v. 6, n. 1, 2011, 23-29
doi: 10.5132/jbse.2011.01.004

JBSE

Estimación de la Toxicidad Combinada de Mezclas de Furadán 4F[®] y Monofos[®] sobre *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

J. IANNAcone*, L. ALVARiNO & N. MAMANI

Laboratorio de Invertebrados, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma – URP, Lima, Peru

(Received May 8, 2009; Accepted May 31, 2010)

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto ecotoxicológico del Furadán 4F[®] (ingrediente activo (i.a.) carbofurano) y Monofos[®] (i.a. metamidofos) en mezclas heterotóxicas y equitóxicas sobre los alevinos de la trucha *Oncorhynchus mykiss*, y a partir de estos resultados evaluar el riesgo ambiental acuático de estos dos insecticidas. Las mortalidades fueron evaluadas de 24 hasta 96 horas de exposición y la toxicidad combinada fue calculada en base a unidades tóxicas (UT). Para las mezclas heterotóxicas de exposición, la CL₅₀ (96 horas) del Monofos[®] disminuye con el aumento de dos concentraciones constantes y fijas del Furadán 4F[®] (251 y 502 µg.L⁻¹ equivalentes de i.a.), exhibiendo una toxicidad sinérgica. El mismo comportamiento se observó para la CL₅₀ (96 horas) de exposición del Furadán 4F[®] a cinco concentraciones constantes y fijas de Monofos[®] (1,42; 2,85; 5,70; 11,41 y 22,82 mg.L⁻¹ equivalentes de i.a.), exhibiendo una toxicidad sinérgica. Para las mezclas equitóxicas, las UTs de la mezcla variaron entre 0,97 a 1,02. Los datos indican que el Furadán 4F[®] y el Monofos[®] exhiben una toxicidad sinérgica o aditiva parcial cuando se presentan en concentraciones equitóxicas.

Palabras clave: carbofurano, metamidofos, *Oncorhynchus mykiss*, toxicidad combinada.

ABSTRACT

Toxicity estimation for mixtures of Furadán 4F[®] and Monofos[®] on *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

The aim of present study was to evaluate the ecotoxicological effect of Furadán 4F[®] (active ingredient (a.i.) carbofuran) and Monofos[®] (a.i. metamidophos) in heterotoxic and equitoxic mixtures on trout larvae *Oncorhynchus mykiss* and, with these results, to evaluate aquatic environmental risk of both insecticides. Mortalities were evaluated from 24 to 96 hours of exposure and joint toxicity was estimated through the calculation of toxic units (TU). For heterotoxic mixtures exposure, LC₅₀ (96 hours) of Monofos[®] decreased with the increase of two fixed and constant concentrations of Furadán 4F[®] (251 and 502 µg.L⁻¹ equivalent of a.i. carbofuran), exhibiting synergic toxicity. The same behavior was observed for the LC₅₀ (96 hours) exposure to Furadán 4F[®] at five constant and fixed concentrations for Monofos[®] (1.42; 2.85; 5.70; 11.41 and 22.82 mg.L⁻¹ equivalent of a.i. metamidophos), which also showed synergic toxicity. TU varied from 0.97 to 1.02 for equitoxic mixtures. Results indicate that Furadán 4F[®] and Monitor[®] exhibit a synergic or partial additive toxicity whenever at equitoxic concentrations.

Keywords: carbofuran, , metamidophos, *Oncorhynchus mykiss*, joint toxicity.

* Corresponding author: José Iannacone, e-mail: joseiannacone@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

Dentro de los principales factores que afectan la biodiversidad en todas sus escalas, se destaca la degradación ambiental por sustancias químicas. En particular, los insecticidas químicos que pueden llegar a los ambientes dulceacuícolas están considerados entre los más deletéreos. Burton & Nordstrom (2004) indican que es importante la identificación del grupo químico crítico en una mezcla de contaminantes en el medio acuático. Generalmente es relevante establecer cual es el químico que más contribuye a la toxicidad de una muestra ambiental. Sin embargo, muchas veces la toxicidad de un plaguicida en una mezcla, en términos de CL_{50} , no necesariamente coincide con la toxicidad del mismo plaguicida analizado individualmente debido a que los plaguicidas en mezclas pueden presentar diferentes patrones de interacción (aditivos, sinérgicos o antagonísticos) (Mitchell *et al.*, 2002).

La investigación del efecto ecotoxicológico de mezclas otorga peso y solidez a la evaluación de la calidad de agua, debido a la gran variedad de químicos orgánicos e inorgánicos que habitualmente contienen tales mezclas (Wong & Pak, 2004). Por esta razón, la evaluación por bioensayos de los efectos de las sustancias químicas combinadas o en mezcla resultan extremadamente importantes. Mediante estos estudios se establecen los criterios de calidad para la protección de la vida acuática, así como los estándares de calidad ambiental para cada agente químico (Burton & Nordstrom, 2004).

El carbofurano es un carbamato sistémico de efecto insecticida, acaricida y nematocida, con bajo efecto residual (Mascolo *et al.*, 2005; Tazza, 2005). Como resultado de su amplio uso, se le puede encontrar en el suelo, las aguas superficiales, los alimentos y la fauna silvestre (Dobšiková, 2003). En los ambientes acuáticos, la toxicidad del carbofurano es influenciada por las poblaciones microbianas presentes en los sedimentos. El carbofurano puede degradarse en aguas neutras y moderadamente alcalinas (Mascolo *et al.*, 2005). El carbofurano provoca en peces necrosis difusa, desarreglo cordal y cambios en el metabolismo de lípidos (Sarkar *et al.*, 2005).

El organofosforado metamidofos es un insecticida y acaricida de contacto y acción sistémica, con alto poder residual. Es altamente tóxico para el hombre por vía oral, dérmica y por inhalación. Es un insecticida de amplio espectro para el control de las plagas agrícolas que atacan cultivos tales como el maíz, papa, brócoli, vid y algodón (White *et al.*, 2006). Es uno de los plaguicidas más empleados en la agricultura peruana y del neotrópico, bajo diferentes formulaciones (Iannacone *et al.*, 2002; Sinclair & Boxall, 2002). En el Perú, existen 27 productos comerciales con diferentes formulaciones para el metamidofos, registrados en el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA)/Ministerio de Agricultura (MINAG) para su empleo en el control de plagas agrícolas (Tazza, 2005). Debido a su alta solubilidad y a la elevada probabilidad de encontrarlo en el ambiente dulceacuícola, el metamidofos, puede ocasionar importantes efectos tóxicos en la biota animal (USEPA, 1998).

Los peces son extremadamente sensibles a la perturbación ambiental. Numerosas especies han sido propuestas como modelos biológicos para evaluar la ecotoxicidad de sustancias

químicas contaminantes. En particular, los alevines de truchas *Oncorhynchus mykiss* (Osteichthyes: Salmonidae) (Walbaum, 1792) han sido un modelo muy utilizado, dada su elevada sensibilidad a contaminantes, así como su relevancia como recurso natural. De hecho, *O. mykiss* constituye uno de los principales recursos hidrobiológicos de la actividad de acuicultura continental en el Perú, siendo una especie muy sensible a las contaminaciones orgánicas. Esta es una de las especies más usadas en bioensayos para evaluar el impacto de diversas sustancias químicas en los ecosistemas dulceacuícolas (Wan *et al.*, 2005).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la toxicidad del Furdán 4F® (ingrediente activo (i.a.) carbofurano) y del Monofos® (i.a. metamidofos) sobre los alevinos del pez *O. mykiss*, en mezclas heterotóxicas y equitóxicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Plaguicidas

Furdán 4F® (i.a. carbofurano) (2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7il-metilcarbamato, PM = 221,3): se utilizó la formulación de pasta fluida (1200 mg.L⁻¹ equivalentes de i.a.), representativa del mercado Nacional en Perú.

Monofos® (i.a. metamidofos) (O,S-dimetilo fosforamidotoato, PM = 141,1): se utilizó la formulación de concentrado soluble (600 g.L⁻¹ equivalentes de i.a.), representativa del mercado Nacional en Perú.

Para los ensayos, cada formulado se disolvió al 1% en agua destilada (pH = 7,2; conductividad específica = 70 μ mos cm⁻¹). En los ensayos se aplicaron concentraciones de ingrediente activo (i.a.) en mg.L⁻¹ ó μ g.L⁻¹ y con un factor de dilución mayormente de 0,5.

Organismos prueba

Oncorhynchus mykiss. Se utilizaron las instalaciones del Laboratorio de Sanidad del Centro Piscícola, El Ingenio (75°15'W, 11°52'S), Perú. Se emplearon alevines de 15 a 20 días posteriores a la absorción del saco vitelino, que recién se comenzaban a alimentar con alimento artificial a base de un granulado con un mínimo de 45% de proteína compuesto principalmente por harina de pescado y residuos orgánicos de la producción de cerveza (Alimentos Balanceados "La Molina", Lima, Perú). En este bioensayo no fue necesaria una aclimatación previa, debido a que se utilizó la misma calidad de agua que la empleada en el cultivo intensivo de la trucha. La temperatura del agua fue de 12°C, pH = 7,1 \pm 0,2; oxígeno disuelto = 7,0 \pm 0,1 mg.L⁻¹; alcalinidad = 280 mg.L⁻¹ y dureza total = 174 mg.L⁻¹. El fotoperiodo fue 12:12 horas. No se proporcionó alimento a los alevines durante el transcurso del bioensayo. Los bioensayos de carácter agudo tuvieron una duración de 96 horas, sin recambio de agua. Cada recipiente de plástico empleado contuvo 4 L de solución test. Las pruebas para los bioensayos estuvieron compuestas de un control y cinco concentraciones nominales. Para cada prueba se utilizó un total de 240 alevines, de 2,4 a 3,8 cm de longitud. En cada unidad se colocaron 10 peces que se distribuyeron al azar

a los distintos tratamientos. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición.

Bioensayos

Se realizaron bioensayos con mezclas heterotóxicas de Monofos® (i.a. metamidofos) y de Furadán 4F® (i.a. carbofurano) sobre los alevinos del pez *O. mykiss* en siete combinaciones de concentraciones. Las dos primeras mezclas fueron a base de 4,86; 12,16; 30,4; 76 y 190 mg.L⁻¹ de Monofos (equivalentes de metamidofos) con concentraciones constantes a 502 y 251 µg.L⁻¹ de Furadán 4F® (equivalentes de carbofurano), respectivamente. Las cinco mezclas restantes fueron a base de 384; 960; 2400; 6000 y 15000 µg.L⁻¹ de Furadán 4F® (equivalentes de carbofurano) con concentraciones constantes de 22,82, 11,41, 5,70, 2,85, y 1,42 mg .L⁻¹ de Monofos® (equivalentes de metamidofos), respectivamente.

De igual forma fueron llevados a cabo bioensayos en mezclas equitóxicas del Furadán 4F® y del Monofos® sobre los alevinos de *O. mykiss*, en dos series de concentraciones, a dos factores de dilución diferentes (0,4 y 0,7) en la que en cada componente de la mezcla está en la misma fracción de su propia toxicidad individual, conteniendo la misma cantidad de Unidades Tóxicas (UT). La primera serie de concentración en la mezcla binaria equitóxica fue para Monofos® (mg.L⁻¹ equivalentes de metamidofos) de 5,8; 14,6; 36,51; 91,28 y 228,2 y para Furadán 4F® (µg.L⁻¹ equivalentes de carbofurano) de 128,5; 321,3; 803,2; 2008 y 5020. La segunda serie de concentración en la mezcla binaria equitóxica fue para Monofos® (mg.L⁻¹ equivalentes de metamidofos) de 5,48; 7,8; 11,2; 15,9 y 22,82, y para Furadán 4F® (µg.L⁻¹ equivalentes de carbofurano) de 120,5; 170,2; 246; 351,4 y 502. La segunda mezcla equitóxica a una dilución de 0,7 fue repetida dos veces.

Tratamiento de datos

Las pruebas de ecotoxicidad aguda para mezclas heterotóxicas y equitóxicas se evaluaron en cinco concentraciones, más un control o testigo, y con cuatro repeticiones, en un diseño en bloque completamente aleatorizado (DBCA) de 6 × 4. En todos los casos la eficacia de los tratamientos se evaluó a través de un análisis de Varianza de dos vías, previa transformación de los porcentajes de mortalidad a raíz cuadrada del arcoseno, con el fin de ajustar los datos a la distribución normal. En el caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos o las repeticiones se realizó una Prueba de Significación DVS (Diferencia Verdaderamente Significativa) de Tukey. La CL₅₀ y sus respectivos límites de confianza al 95%, se calcularon usando el programa computarizado EPA - Probit versión 1.5 (1986). Los valores de CL₅₀ para el Monofos® (i.a. metamidofos) y el Furadán 4F® (i.a. carbofurano) individual a 24, 48, 72 y 96 horas de exposición sobre alevinos de *O. mykiss* fueron tomados de Iannacone & Mamani (2004), y Iannacone *et al.* (2007). Para las mezclas heterotóxicas y equitóxicas se siguió el modelo de concentración de adición (Ra *et al.*, 2006). La toxicidad de la mezcla se determinó de acuerdo a Marking (1977) empleando la siguiente ecuación:

$$UT_{mezcla} = \left[\frac{CL_{50} \text{ metamidofos (en la mezcla)}}{CL_{50} \text{ metamidofos (individual)}} \right] + \left[\frac{CL_{50} \text{ carbofurano (en la mezcla)}}{CL_{50} \text{ carbofurano (individual)}} \right] \quad (1)$$

Donde, UT_{mezcla} = Unidades tóxicas totales o suma de la actividad biológica. Para las mezclas binarias de tóxicos se determinó si existen efectos antagonísticos (UT > 1), aditivos = 1 o sinérgicos (UT < 1). Se consideró 1 UT equivalente a la CL₅₀ (en mg.L⁻¹ ó µg.L⁻¹) de un insecticida individual cuando es evaluado solo (Otitoloju, 2003).

Para un mayor refinamiento en la interpretación de los datos de toxicidad en las mezclas equitóxicas, los resultados obtenidos también fueron analizados empleando el modelo de Índice de Toxicidad de la Mezcla (ITM) para comparar cuantitativamente los resultados de la mezcla de toxicidad, con la fórmula de Köneman (Köneman, 1981): ITM = 1 - logM/logn, donde M = ΣUT_i. ITM es calculado empleando UT_{mezcla} y el número de componentes de la mezcla es n = 2. Los efectos de la mezcla pueden ser evaluados por este índice en una escala de toxicidad propuesta por Köneman (Köneman, 1981), el cual señala que si ITM < 0 entonces la acción es antagonista, si ITM = 0 entonces no hay adición (acción independiente), si 0 < ITM < 1 entonces hay adición parcial, si ITM = 1 entonces hay concentración de adición (acción simple) y finalmente si ITM > 1 es supra-adición o sinérgica.

RESULTADOS

Efecto ecotoxicológico del Furadán 4 F® (i.a. carbofurano) y de Monofos® (i.a. metamidofos) en mezclas heterotóxicas a Furadán 4F® (i.a. carbofurano) constante sobre O. mykiss

En la Tabla 1 se señalan los valores de CL₅₀, límites de confianza, estadístico de Fisher, probabilidad y coeficientes de determinación para el ajuste de la curva para las mezclas heterotóxicas entre 24 a 96 horas de exposición.

Efecto ecotoxicológico del Furadán 4F® (i.a. carbofurano) y del Monofos® (i.a. metamidofos) en mezclas heterotóxicas a Monofos® (i.a. metamidofos) constante sobre O. mykiss

En la Tabla 1 se muestran los valores de CL₅₀, límites de confianza, estadístico de Fisher, probabilidad y coeficientes de determinación para el ajuste de la curva para las mezclas heterotóxicas entre 24 a 96 horas de exposición.

Efecto ecotoxicológico del Furadán 4F® (i.a. carbofurano) y del Monofos® (i.a. metamidofos) en mezclas equitóxicas sobre los alevinos de O. mykiss

En la Tabla 2 se indican los valores de CL₅₀, límites de confianza, estadístico de Fisher, probabilidad y coeficientes de determinación para el ajuste de la curva para las mezclas equitóxicas entre 24 a 96 horas de exposición.

Tabla 1 - Valores de CL_{50} y límites de confianza de mezclas binarias heterotóxicas de Monitor® (i.a. metamidofos) y de Furdán 4F® (i.a. carbofurano) en *Oncorhynchus mykiss*.

Plaguicida	Tiempo de exposición (horas)							
	24	48	72	96	24	48	72	96
Monitor® (i.a. metamidofos)	Concentración constante de Furdán 4F® (i.a. carbofurano)							
	502 µg.L⁻¹				251 µg.L⁻¹			
CL_{50} (mg.L ⁻¹)	19,22	6,93	2,47	2,21	44,93	14,78	11,9	9,71
LC inferior (mg.L ⁻¹)	16,51	5,45	0,40	0,07	38,28	7,28	9,95	8,09
LC superior (mg.L ⁻¹)	22,38	8,42	3,95	3,71	52,73	29,64	14,18	11,56
R ²	0,56	0,49	0,45	0,42	0,83	0,50	0,48	0,43
F	55,2	60,5	32,7	43,8	22,7	23,8	29,3	24,2
P	0,002	0,002	0,004	0,003	0,006	0,006	0,005	0,006
UTmezcla					0,11			
Tipo de interacción					sinérgico			
Furdán 4F® (i.a. carbofurano)	Concentración constante de Monitor® (i.a. metamidofos)							
	22,82 mg.L⁻¹				11,41 mg.L⁻¹			
CL_{50} (µg.L ⁻¹)	395	< 384	< 384	< 384	1182	277	< 384	< 384
LC inferior (µg.L ⁻¹)	314	ND	ND	ND	408	123	ND	ND
LC superior (µg.L ⁻¹)	463	ND	ND	ND	2524	373	ND	ND
R ²	0,51	ND	ND	ND	0,76	0,67	ND	ND
F	29,4	7,9	22,1	8,2	40,6	25,2	14,6	11,2
P	0,005	0,02	0,006	0,02	0,003	0,005	0,01	0,02
UTmezcla	0,06				0,27			
Tipo de interacción	sinérgico				sinérgico			
	5,71 mg.L⁻¹				2,85 mg.L⁻¹			
CL_{50} (µg.L ⁻¹)	1432	495	< 384	< 384	1276	573	360	< 384
LC inferior (µg.L ⁻¹)	1170	434	ND	ND	1072	ND	261	ND
LC superior (µg.L ⁻¹)	1746	574	ND	ND	1518	ND	430	ND
R ²	0,78	0,53	ND	ND	0,74	ND	0,54	ND
F	46,3	23,0	22,8	18,4	10,5	12,7	42,4	43,8
P	0,001	0,006	0,006	0,008	0,01	0,01	0,003	0,003
UTmezcla	0,48				0,73			
Tipo de interacción	sinérgico				sinérgico			
	1,43 mg.L⁻¹							
CL_{50} (µg.L ⁻¹)	2469	1119	474	322				
LC inferior (µg.L ⁻¹)	2013	ND	383	186				
LC superior (µg.L ⁻¹)	3028	ND	563	418				
R ²	0,86	ND	0,70	0,50				
F	33,7	28,7	47,6	44,1				
P	0,004	0,005	0,003	0,003				
UTmezcla	0,89							
Tipo de interacción	sinérgico							

Los valores de concentración constante son expresados en µg.L⁻¹ y en mg L⁻¹ para carbofurano y metamidofos respectivamente. LC = límite de confianza. F = estadístico de Fisher. P = probabilidad. R² = Coeficiente de determinación para el ajuste de la curva. CL_{50} a 24 horas: carbofurano (5740 µg.L⁻¹). CL_{50} a 48 horas: carbofurano (1020 µg.L⁻¹). CL_{50} a 72 horas: carbofurano (490 µg.L⁻¹). CL_{50} a 96 horas: metamidofos (19,12 mg.L⁻¹); carbofurano (360 µg.L⁻¹). UTmezcla = Unidad tóxica total = Suma de unidades tóxicas presentes en la mezcla.

La Tabla 1 muestra los valores de CL_{50} para cada agroquímico empleado en forma individual, y en mezclas heterotóxicas siendo en todos los casos la interacción sinérgica según el modelo de Concentración de adición. También, se muestran los valores de CL_{50} en mezclas equitóxicas, la cual fue según las UTmezclas: antagonica y sinérgica. De igual forma, los ITMs (Modelo de índice de toxicidad de mezclas) para un factor de dilución de 0,4 y 0,7, respectivamente, señalan una interacción tipo sinérgica y de adición parcial, respectivamente (Tabla 2).

DISCUSIÓN

Los plaguicidas son estresores químicos que son diseñados para tener actividad biológica y que son intencionalmente colocados en grandes cantidades en el ambiente (García, 2008). Los insecticidas son clasificados en grupos por su estructura química similar y por su modo de acción tóxico. Los insecticidas organofosforados y los carbamatos, como el metamidofos y el carbofurano, respectivamente, ambos inhiben la enzima acetilcolinesterasa (AChE), una enzima que hidroliza el neurotransmisor acetilcolina. La inhibición de la AChE resulta

Tabla 2 - Valores de CL₅₀ y límites de confianza de mezclas binarias equitoxicas de Monitor® (i.a. metamidofos) y de Furadán 4F® (i.a. carbofurano) en *O. mykiss* a un factor de dilución de 0,4 y 0,7.

Concentraciones	Periodos de exposición (h)			
	24	48	72	96
Factor de dilución de 0,4				
Furadán 4F® (i.a. carbofurano)				
CL ₅₀ (µg.L ⁻¹)	398	189	<189	<189
LC inferior (µg.L ⁻¹)	348	166	ND	ND
LC superior (µg.L ⁻¹)	461	219	ND	ND
R ²	0,72	0,68	ND	ND
F	45,3	24,1	22,6	23,4
P	0,003	0,006	0,006	0,006
Monitor® (i.a. metamidofos)				
CL ₅₀ (mg.L ⁻¹)	18,1	8,57	<8,57	<8,57
LC inferior (mg.L ⁻¹)	15,82	7,53	ND	ND
LC superior (mg.L ⁻¹)	20,98	9,92	ND	ND
R ²	0,64	0,66	ND	ND
F	45,3	24,1	22,6	23,4
P	0,003	0,006	0,006	0,006
UTmezcla				0,97
Tipo de interacción según UT				sinérgica
ITM				1,04
Tipo de interacción según ITM				sinérgica
Factor de dilución de 0,7				
Furadán 4F® (i.a. carbofurano)				
CL ₅₀ (µg.L ⁻¹)	483	290	230	198
LC inferior (µg.L ⁻¹)	448	273	213	186
LC superior (µg.L ⁻¹)	540	316	247	212
R ²	0,73	0,74	0,59	0,61
F	14,5	63,6	18,5	57,8
P	0,01	0,002	0,006	0,002
Monitor® (i.a. metamidofos)				
CL ₅₀ (mg.L ⁻¹)	21,99	13,34	10,45	9,03
LC inferior (mg.L ⁻¹)	20,39	12,41	9,71	8,47
LC superior (mg.L ⁻¹)	24,57	14,36	11,25	9,66
R ²	0,67	0,65	0,72	0,70
F	14,5	63,6	18,5	57,8
P	0,01	0,002	0,006	0,002
UTmezcla				1,02
Tipo de interacción según UT				Antagónica
ITM				0,97
Tipo de interacción según ITM				adición parcial

LC = límite de confianza. F = estadístico de Fisher. P = probabilidad. R² = Coeficiente de determinación para el ajuste de la curva. CL₅₀ a 96 horas de cada tóxico individual: metamidofos (19,12 mg.L⁻¹); carbofurano (360 µg.L⁻¹). UT_{mezcla} = Unidad tóxica total. = Suma de unidades tóxicas presentes en la mezcla. ITM = Índice de Toxicidad de la Mezcla.

en la acumulación de acetilcolina y la sobreestimulación de receptores colinérgicos, los cuales sobreestimulan la actividad neurológica de los organismos (García, 2008).

En forma individual el metamidofos empleando el cociente de riesgo ocasionó un alto efecto en el ambiente acuático sobre *Chironomus calligraphus* (Goeldi, 1905), *O. mykiss*, *Paracheirodon innesi* (Rabout, 1940) y *Tetrapygus niger* Molina, 1782 (Iannacone *et al.*, 2007). De igual forma, el carbofurano produjo un alto riesgo dulceacuícola sobre cuatro especies acuáticas: *Daphnia magna*, *P. innesi*, *C. calligraphus* y *Lemna minor* Linnaeus, 1753 (Alayo & Iannacone, 2007).

Deener (2000) describe que mayormente se observan efectos aditivos y sinérgicos siguiendo el modelo de concentración de adición entre mezclas de esteres de organofosforados y carbamatos en organismos acuáticos. La mezcla heterotóxica del organofosforado Monofos® y del carbamato Furadán® en siete niveles de combinaciones exhibió interacciones sinérgicas en todas las ocasiones (Tabla 1). Se han encontrado escasas referencias en la literatura de la toxicidad de mezclas binarias heterotóxicas sobre especies dulceacuícolas en la que el metamidofos o el carbofurano sea uno de los componentes. En el pez *Mystus vittatus* (Bloch, 1794) en mezclas heterotóxicas

de endosulfan, diclorvos y carbofurano se encontró efectos sinérgicos en mezclas terciarias cuando el endosulfan y el diclorvos se mantuvieron constantes y el carbofurano variable; en cambio en mezclas binarias se observó efectos antagónicos tanto cuando el diclorvos se mantuvo constante y el endosulfan variable, y cuando carbofurano se mantuvo constante y el endosulfan variable (Verma *et al.*, 1980). En forma similar para mezclas con otros plaguicidas, Denton *et al.* (2003) ha observado efectos sinérgicos en mezclas heterotóxicas de esfenvalerato y diazinon sobre las larvas del pez *P. promelas*. De igual manera, Los herbicidas atrazina, simazina, cyanazina y hexazinona son capaces de sinergizar la toxicidad en mezclas heterotóxicas del clorpirifos y del diazinon en el insecto *Chironomus tentans* (Beyers, 1993) (Schuler *et al.*, 2005). La atrazina incrementa la toxicidad aguda del clorpirifos en el anfibio *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), pero no produce efectos de variación de toxicidad en el pez *Lepomis macrochirus* (Rafinesque, 1819) y en el anfibio *Rana clamitans* (Latreille, 1802) (Wacksman *et al.*, 2006). Mezclas binarias heterotóxicas de diuron y piritionita de zinc exhiben varios tipos de interacciones (sinérgica, antagonista y aditiva) en el crustáceo *Artemia salina* (Linneus, 1758) dependiendo de la concentración de ambos químicos (Koutsaftis & Aoyama, 2007). En adición, Key *et al.* (2007) encontraron que la mezcla heterotóxica del fipronil/imidacloprid no muestra efectos sinérgicos sobre el crustáceo *Palaemonetes pugio* (Holthuis, 1949). Sin embargo, cuando la atrazina se agrega a esta mezcla ocurre toxicidad sinérgica.

La mezcla equitóxica del Monofos[®] (i.a. metamidofos) y del Furadán[®] (i.a. carbofurano) en dos niveles de combinaciones, y según el modelo empleando exhibe una interacción antagónica, sinérgica o aditiva parcial (Tabla 2). Könemann & Pieters (1996) señalan que dependiendo del modelo de toxicidad de mezclas empleado diferentes conclusiones pueden ser obtenidas del mismo resultado. En el presente estudio para las mezclas equitóxicas se han usado dos modelos, el de concentración de adición de Marking (1977) y el de Índice de Toxicidad de la Mezcla (ITM) de Könemann, así en la mezcla de metamidofos y carbofurano a un factor de dilución de 0,7, según Marking la mezcla es antagónica y según el ITM de Könemann es adición parcial. Sin embargo, los valores en ambos casos son muy cercanos a uno, con una diferencia de +0,02 y -0,03, respectivamente. Por lo tanto, más se estarían acercando a ser aditiva y concentración de adición para los modelos UT y ITM, respectivamente. Lamentablemente no se tienen referencias en la literatura de la toxicidad de mezclas binarias equitóxicas sobre organismos acuáticos en la que uno de los componentes sea el metamidofos o el carbofurano. En el presente trabajo se emplearon dos modelos para evaluar la toxicidad combinada de mezclas de Furadán 4F[®] y Monofos[®]. El primer modelo, el de Concentración de adición tiene la ventaja de ser de fácil aplicación al presentar solo tres niveles (antagónico, aditivo y sinérgico), pero tiene como desventaja que solo se puede emplear para tóxicos de acción similar y en algunas ocasiones sobrestima la toxicidad de la mezcla (Gaete & Chávez, 2008). En cambio el segundo modelo, se considera un refinamiento del primero pero que tiene cinco niveles (antagónico, no hay adición, adición parcial, concentración de adición y sinérgica) lo cual lo hace mas complejo, pero permite determinar la toxicidad de

tóxicos de acción disimilar (Zhou *et al.*, 2008). Sin embargo, con otros plaguicidas se han observado diferentes interacciones. Bailey *et al.* (1997) encontraron para el diazinon y clorpirifos que exhiben una toxicidad aditiva cuando se presentan juntos en mezclas equitóxicas en *Ceriodaphnia dubia* (Richard, 1894).

El modelo de concentración de adición (CA) seguido por Marking (1977) en el presente trabajo, para determinar el tipo de interacción a través de las UTs puede predecir adecuadamente la toxicidad de mezclas binarias y ternarias de tóxicos de acción similar, lo cual es confirmado con los ensayos realizados en *D. magna* a 48 horas de exposición con mezclas de dimetoato, pirimicarb y alquil-benceno sulfonato lineal (Syberg *et al.*, 2008). Por ende, la necesidad de desarrollar criterios de calidad de agua para plaguicidas no solo para una sola sustancia, sino para mezclas binarias de químicos es necesaria (Iannacone & Salazar, 2007).

REFERENCIAS

- ALAYO, M. & IANNAZONE, J., 2007. Evaluación del riesgo dulceacuicola del carbofurano empleando bioensayos con cuatro organismos destinatarios. In: *Resúmenes del VIII Congreso SETAC LA "Ecotoxicología y Desarrollo sustentable"*. Montevideo, Uruguay, p. 57.
- BAILEY, H. C., MILLER, J. L., MILLER, M. J., WIBORG, L. C., DEANOVIC, L. & SHED, T., 1997, Joint acute toxicity of diazinon and chlorpyrifos to *Ceriodaphnia dubia*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16:2304-2308. doi: 10.1002/etc.5620161115.
- BURTON, G. A. J. R. & NORDSTROM, J. E., 2004, An *in situ* toxicity identification evaluation method Part I: Laboratory validation. *Environ. Toxicol. Chem.*, 23:2844-2850. doi: 10.1897/03-409.1.
- DENEER, J. W., 2000, Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. *Pest. Manag. Sci.*, 56:516-520. doi: 10.1002/(SICI)1526-4998(200006)56:6.
- DENTON, D. L., WHELOCK, C. E., MURRAY, S. A., DEANOVIC, L. A., HAMMOCK, B. D. & HINTON, D. E., 2003, Joint acute toxicity of esfenvalerate and diazinon to larval fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 22:336-341. doi: 10.1002/etc.5620220214.
- DOBŠIKOVÁ, R., 2003, Acute toxicity of carbofuran to selected species of aquatic and terrestrial organisms. *Plant. Protec. Sci.*, 39:103-108.
- GAETE, H. & CHAVEZ, C., 2008, Evaluación de la toxicidad de mezclas binarias de obre, cinc y arsénico sobre *Daphnia obtusa* (Kurz, 1874) (Cladocera, Crustacea). *Limnetica*, 27:1-10.
- GARCÍA, G. J. E., 2008, La caja de Pandora de los plaguicidas. *Rev. Acta Académica*, 42:101-129.
- IANNAZONE, J. & MAMANI, N., 2004, Efecto ecotoxicológico del carbofurano y metamidofos sobre *Oncorhynchus mykiss* (Osteichthyies: Salmonidae). In: *Resumos VIII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia*. Florianópolis, SC, Brasil, p. 65.
- IANNAZONE, J. & SALAZAR, N., 2007, Efecto de mezclas binarias de tres metales pesados sobre larvas de *Chironomus calligraphus*. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, 2:211-217. doi:10.5132/jbse.2007.03.002
- IANNAZONE, J., ALVARIÑO, L. & CABALLERO, C., 2002, Empleo del caracol de agua dulce *Physa venustula* como herramienta ecotoxicológica para la evaluación de riesgo ambientales por plaguicidas. *Agric. Téc. (Chile)*, 62:212-225. doi: 10.4067/S0365-28072002000200014.

- IANNACONE, J., ONOFRE, C. R., HUANQUI, S. O., GIRALDO, A. J., MAMANI, P. N., MIGLIO, T. M. C. & ALVARIÑO, F. L., 2007, Evaluación del riesgo ambiental del insecticida metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no destinatarios. *Agric. Téc. (Chile)*, 67:126-138. doi: 10.4067/S0365-28072007000200002.
- KEY, P., CHUNG, K., SIEWICKI, T. & FULTON, M., 2007, Toxicity of three pesticides individually and in mixture to larval grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 68:272-277. doi:10.1016/j.ecoenv.2006.11.017.
- KÖNEMANN, H., 1981, Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: a proposal for a quantitative approach and experimental results. *Toxicology*, 19:229-238. doi:10.1016/0300-483X(81)90132-3.
- KÖNEMANN, W. H. & PIETERS, M. N., 1996, Confusion of concepts in mixture toxicology. *Environ. Toxicol.*, 34:1025-1931. doi:10.1016/S0278-6915(97)00070-7.
- KOUTSAFTIS, A. & AOYAMA, I., 2007, Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Sci. Total Environ.*, 387:166-174. doi:10.1016/j.scitotenv.2007.07.023.
- MARKING, L. L., 1977, Method for assessing additive toxicity of chemical mixtures. In: F. L. Mayer & J. L. Hamelink (ed.), *Aquatic toxicology and hazard evaluation (ASTM STP 634)*. American Society for Testing and Materials, p. 99-108.
- MASCOLO, G., LOPEZ, A., DETOMASO, A. & GUZZELLA, L., 2005, UV degradation of carbofuran insecticide in aqueous solution: identification and toxicity evolution of by-products. *Water Suppl.*, 4:313-319.
- MITCHELL, J. A. K., BURGESS, J. E. & STUETZ, R. M., 2002, Developments in ecotoxicity testing. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 1:169-198.
- OTITOLOJU, A. A., 2003, Relevance of joint action toxicity evaluations in setting realistic environmental safe limits of heavy metals. *J. Environ. Manage.*, 67:121-128. doi: 10.1016/S0301-4797(02)00160-3.
- RA, J. S., LEE, B. L., CHANG, N. I. & KIM, S. D., 2006, Estimating the combined toxicity by two-step prediction model on the complicated chemical mixtures from the wastewater treatment plant effluents. *Environ. Toxicol. Chem.*, 25:2107-2113. doi: 10.1897/05-484R.1.
- SARKAR, B., CHASTTERJEE, A., ADHIKARI, S. & AYYAPPAN, S., 2005, Carbofuran –and cypermethrin-induced histopathological alterations in the liver of *Labeo rohita* (Hamilton) and its recovery. *J. Appl. Ichthyol.*, 21:131-135. doi: 10.1111/j.1439-0426.2004.00590.x.
- SCHULER, J., TRIMBLE, A. J., BELDEN, J. B. & LYDY, M. J., 2005, Joint toxicity of triazine herbicides and organophosphate insecticide to the midge *Chironomus tentans*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 49:173-177. doi: 10.1007/s00244-004-0224-8.
- SINCLAIR, C. J. & BOXALL, A. B. A., 2002, *Assessment of the environmental properties and effects of pesticide transformation products*. Report. Cranfield Centre for EcoChemistry. Cranfield University, UK, 55 p.
- SYBERG, K., ELLEBY, A., PEDERSEN, H., CEDERGREEN, N. & FORBES, V. E., 2008, Mixture toxicity of three toxicants with similar and dissimilar modes of action to *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 69:428-436. doi: 10.1016/j.ecoenv.2007.05.010.
- TAZZA, M., 2005, Plaguicidas Ia-Ib en el Perú. *Campaña para la prohibición y restricción de los plaguicidas extremadamente y altamente peligrosos*. RAAA (Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos) (Ed.) Lima, Perú. 12 p.
- USEPA, United States of Environmental Protection Agency, 1998, *EFED Methamidophos: Revision of EFED risk assessment for the reregistration eligibility decision (RED)*. Document to include registrant's comments. 73 p. United States of Environmental Protection Agency. Office of prevention, pesticides and toxic substances, Washington DC, USA.
- VERMA, S. R., RANI, S., BANSAI, S. K. & DALELA, R. C., 1980, Effects of the pesticides thiodox, dichlorvos and carbofuran on the test fish *Mystus vittatus*. *Water Air Soil Poll.*, 13: 229-234. doi: 10.1007/BF02279549.
- WACKSMAN, M. N., MAUL, J. D. & LYDY, M. J., 2006, Impact of atrazine on chlorpyrifos toxicity in four aquatic vertebrates. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51:681-689. doi: 10.1007/s00244-005-0264-8.
- WAN, M. T., KUO, J. N., BUDAY, C., SCHROEDER, G., VAN AGGELEN, G. & PASTERNAK, J., 2005, Toxicity of alpha-, beta-, (alpha + beta)-endosulfan and their formulated and degradation products to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus kisutch*, and biological implications in streams. *Environ. Toxicol. Chem.*, 24:1146-1154. doi: 10.1897/04-300R1.1.
- WHITE, L. M., ERNST, W. R., JULIEN, G., GARRON, C. & LEGER, M., 2006, Ambient air concentrations of pesticides used in potato cultivation in Prince Edward Island, Canada. *Pest. Manage. Sci.*, 62:126-136. doi: 10.1002/ps.1130.
- WONG, C.K. & PAK, A.P., 2004, Acute and subchronic toxicity of the heavy metals copper, chromium, nickel, and zinc, individually and in mixture, to the freshwater copepod *Mesocyclops pehpeiensis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 73:190-196. doi: 10.1007/s00128-004-0412-2.
- ZHOU, X., OKAMURA, H. & NAGATA, S., 2008, Remarkable synergistic effects in antifouling chemicals against *Vibrio fisheri* in a bioluminescent assay. *J. Health Sci.*, 52: 243-251.

