



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD EN MUESTRAS DE AGUAS DE LA
ACTIVIDAD BANANERA TRADICIONAL DEL CANTON PASAJE
UTILIZANDO COMO BIOINDICADOR CAENORHABDITIS ELEGANS

PEÑAFIEL CRUZ TAMARA NICOLE
INGENIERA QUÍMICA

VALAREZO GUILLEN RENNY DIONICIO
INGENIERO QUÍMICO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD EN MUESTRAS DE AGUAS DE
LA ACTIVIDAD BANANERA TRADICIONAL DEL CANTON
PASAJE UTILIZANDO COMO BIOINDICADOR
CAENORHABDITIS ELEGANS

PEÑAFIEL CRUZ TAMARA NICOLE
INGENIERA QUÍMICA

VALAREZO GUILLEN RENNY DIONICIO
INGENIERO QUÍMICO

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD EN MUESTRAS DE AGUAS DE LA ACTIVIDAD
BANANERA TRADICIONAL DEL CANTON PASAJE UTILIZANDO COMO
BIOINDICADOR CAENORHABDITIS ELEGANS

PEÑAFIEL CRUZ TAMARA NICOLE
INGENIERA QUÍMICA

VALAREZO GUILLEN RENNY DIONICIO
INGENIERO QUÍMICO

GONZALEZ CARRASCO VICTOR HUGO

MACHALA, 22 DE FEBRERO DE 2022

MACHALA
2022

Evaluación de toxicidad en muestras de agua de la actividad bananera tradicional del Cantón Pasaje utilizando como bioindicador *Caenorhabditis Elegans*

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

INDICE DE SIMILITUD

1%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Técnica de Machala

Trabajo del estudiante

2%

2

assets.ipcc.int

Fuente de Internet

<1%

3

docplayer.es

Fuente de Internet

<1%

4

repositorio.uta.edu.ec

Fuente de Internet

<1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 20 words

Excluir bibliografía

Activo

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, PEÑAFIEL CRUZ TAMARA NICOLE y VALAREZO GUILLEN RENNY DIONICIO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado EVALUACIÓN DE TOXICIDAD EN MUESTRAS DE AGUAS DE LA ACTIVIDAD BANANERA TRADICIONAL DEL CANTON PASAJE UTILIZANDO COMO BIOINDICADOR CAENORHABDITIS ELEGANS, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de febrero de 2022



PEÑAFIEL CRUZ TAMARA NICOLE
0750525925



VALAREZO GUILLEN RENNY DIONICIO
0750649394

DEDICATORIA

Este presente trabajo de titulación se lo dedico con mucho cariño a mi familia a cada miembro que me acompaño y seguirá acompañando en cada paso que quiera dar y aún más si es para formarme como profesional con una ética profesional correcta.

Tamara Nicole Peñafiel Cruz

Este trabajo de titulación se lo dedico a toda mi familia, en especial a mis padres por siempre brindarme su apoyo a lo largo de toda la carrera y a mis hermanos por siempre confiar en mí.

-Renny Dionicio Valarezo Guillen-

AGRADECIMIENTO

Le agradezco primeramente a Dios por no dejarme en el camino de mi carrera universitaria por guiarme cada día y por permitirme seguir adelante, gracias madre Mariuxi Cruz gracias por cada oración por tanta dedicación conmigo gracias a ti escogí esta carrera, gracias padre de mi corazón Edison Peñafiel por todo el esfuerzo que realizas para con todos tus hijos.

Tengo un sinnúmero de agradecimientos para con mi familia en general gracias por el apoyo, gracias Dr. Víctor Hugo Gonzales por apoyarme en mi formación como profesional y gracias a usted pude realizar este presente trabajo de titulación por el conocimiento que me impartió y todas las directrices que fueron necesarias.

Tamara Nicole Peñafiel Cruz

Agradezco a Dios por haberme bendecido en todo momento de mi carrera, por siempre brindarme sabiduría para adquirir los conocimientos necesarios requeridos durante la carrera y lograr desenvolverme ante las adversidades que se presentaban día a día.

A mi padre Jorge Valarezo por haberse esforzado en todo momento y brindarme su apoyo a la distancia junto a mi madre Blanca Guillen, que juntos fueron mis pilares fundamentales y mi motivo de superación, sin ellos yo no hubiera llegado a donde estoy. Mis hermanos Jorge, Carlos y Michael que siempre confiaron en mí y en ningún momento me dejaron solo, me llenaron de consejos y haciéndome ver que todo lo podía.

Por último, al Dr. Víctor Hugo Gonzales por colaborar con sus conocimientos para nuestro trabajo de titulación y estar presto en todo el proceso.

-Renny Dionicio Valarezo Guillen-

RESUMEN

La provincia de El Oro es un sector agrícola, su mayor fuente de ingresos es la actividad bananera, de acuerdo con el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) en la provincia se registran alrededor de 2375 haciendas de cultivo de banano¹, especialmente en las zonas tropicales como Machala, Pasaje, Santa Rosa, Arenillas y El Guabo porque cumplen con las condiciones climáticas adecuadas, su producción es de buena calidad, son económicamente rentables y mantienen su viabilidad en el mercado², además se emplean grandes cantidades de agroquímicos como lo son los plaguicidas organoclorados, organofosforados y organonitrogenados³ que tienen la finalidad de eliminar y controlar las enfermedades del cultivo para que todo el proceso de producción sea estable⁴. Al emplear los plaguicidas se generan contaminantes que amenazan directa e indirectamente al medio ambiente, debido al constante manejo y repetida aplicación, los plaguicidas son persistentes en el suelo y se filtran al agua provocando daños adversos a la salud a largo plazo⁵, siendo el agua indispensable para el crecimiento del cultivo y el proceso de producción de la fruta.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la toxicidad en muestras de aguas de la actividad bananera tradicional del Cantón de Pasaje utilizando como bioindicador *Caenorhabditis elegans*.

Para evaluar la toxicidad se recolectaron tres muestras de agua de distintos puntos en la Hacienda la Herrera ubicada en el cantón Pasaje, siendo la primera muestra en el primer lavado de racimo antes del corte, la segunda muestra en la piscina del segundo lavado de la fruta y la tercera muestra del canal del riego, para conocer la concentración letal media (CL₅₀) usando el bioindicador *C.elegans* por medio de ensayos in vitro fueron expuestos 15 nematodos en diferentes tiempo de exposición de 8, 24, 48 y 72 horas a diferentes concentraciones de 25, 50 y 100% para cada una de las muestras. En base a los resultados se obtuvo la CL₅₀ en las muestras con el intervalo de confianza del 95% y con tiempos de exposición hasta 72 horas, la CL₅₀ fue de 166,958; 158,878 y 166,711 respectivamente entre las muestras no existe diferencia significativa, lo que quiere decir que se requerirá de más concentración (100%) en la muestra para cumplir la letalidad de la mitad de los nematodos.

Se pudo determinar la concentración de plaguicidas organoclorados con la ayuda de un cromatógrafo de gases cuyos resultados fueron de $< 0,005$ mg/l que están por debajo de los límites permisibles de acuerdo con el Libro VI Anexo 1 del Tulsma cumpliendo con los criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola que es de 0,2 mg/l, pero se debe tener presente que los plaguicidas organoclorados son persistentes en el suelo y de difícil biodegradación, existe la presencia del plaguicida Aldrín, aunque su concentración sea mínima, se encuentra prohibido desde 1992 debido a que es un plaguicida nocivo que puede afectar al medio ambiente por su larga durabilidad y causar daño a la salud ocasionando enfermedades a largo plazo como diabetes tipo 2, afecciones al corazón y otras.

Palabras claves: Plaguicidas, ensayos toxicológicos, *Caenorhabditis elegans*, bioindicador.

ABSTRACT

The province of Oro is an agricultural sector, its main source of income is the banana activity, according to the Ministry of Agriculture and Livestock (MAG) in the province there are around 2375 banana cultivation farms¹, especially in tropical areas such as Machala, Pasaje, Santa Rosa, Arenillas and El Guabo because they meet the appropriate climatic conditions, their production is of good quality, they are economically profitable and maintain their viability in the market². In addition, large amounts of agrochemicals are used, such as organochlorine, organophosphate and organonitrogen pesticides³. that have the purpose of eliminating and controlling crop diseases so that the entire production process is stable⁴. When using pesticides, pollutants are generated that directly and indirectly threaten the environment, due to constant handling and repeated application, pesticides are persistent in the soil and filter into the water, causing long term adverse health damage⁵, being the water essential for the growth of the crop and the fruit production process.

The objective of this research was to evaluate the toxicity in water samples from the traditional banana activity of the Canton of Pasaje using as a bioindicator *Caenorhabditis elegans*.

To evaluate the toxicity, three water samples were collected from different points in the Hacienda la Herrera located in the Pasaje canton, being the first sample in the first washing of the bunch before cutting, the second sample in the pool of the second washing of the fruit. and the third sample from the irrigation canal, to determine the mean lethal concentration (CL₅₀) using the bioindicator *C.elegans* Through in vitro tests, 15 nematodes were exposed at different exposure times of 8, 24, 48 and 72 hours at different concentrations of 25, 50 and 100% for each of the samples. Based on the results, the CL₅₀ was obtained the samples with the 95% confidence interval and with exposure times up to 72 hours, the CL₅₀ was 166,958; 158,878 and 166,711, respectively, between the samples, there is no significant difference, which means that a higher concentration (100%) will be required in the sample to meet the lethality of half of the nematodes.

The concentration of organochlorine pesticides could be determined with the help of a gas chromatograph whose result was <0,005 mg/l, which are below the permissible limits according to Book VI Annex 1 of Tulsma, complying with the admissible quality criteria. for water for agricultural use, which is 0.2 mg/l, but it must be borne in mind that organochlorine pesticides are persistent in the soil and difficult to biodegrade, there is the presence of the pesticide Aldrin, although its concentration is minimal, it is prohibited since 1992 because it is a harmful pesticide that can affect the environment due to its long durability and cause damage to health, causing long-term diseases such as type 2 diabetes, heart conditions and others.

Keywords: pesticides, toxicological tests, *Caenorhabditis elegans*, bioindicator.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	14
CAPÍTULO I.....	15
1.1 PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	15
1.1.1 Problema General.....	15
1.1.2 Problemas Específicos	15
1.2 OBJETIVOS.....	16
1.2.1 Objetivo General	16
1.2.2 Objetivos Específicos.....	16
1.3 HIPÓTESIS	16
1.4 JUSTIFICACIÓN	17
CAPÍTULO II	18
2. MARCO TEÓRICO	18
2.1 Industria Bananera en la Provincia de El Oro	18
2.1.1 Banano convencional	18
2.2 Plaguicidas	20
2.2.1 Características de los plaguicidas	20
2.2.2 Clasificación de los plaguicidas	21
2.2.3 Componentes activos en los plaguicidas usados en Bananeras del Ecuador	22
2.2.4 Plaguicidas Organoclorados	23
2.3 Normativas del uso de plaguicidas en Ecuador	23
2.3.1 Plaguicidas prohibidos y restringidos en Ecuador.....	24
2.4 Manejo de plaguicidas utilizados en las bananeras tradicionales.....	25
2.5 Impacto ambiental por el uso de plaguicidas.....	25
2.6 Contaminación de las aguas por el uso de plaguicidas	26

2.7 <i>Caenorhabditis elegans</i>	26
2.7.1 Características generales	26
2.7.2 Ciclo de vida	27
2.7.3 <i>Caenorhabditis elegans</i> como modelo de estudios toxicológicos.....	28
2 METODOLOGÍA	30
3.1 Tipo de investigación.....	30
3.2 Identificación de variables.....	30
3.2.1 Variables independientes.....	30
3.2.2 Variable dependiente.....	30
3.3 Población y muestra	30
3.3.1 Población.....	30
3.3.2 Muestra	30
3.4 Materiales, equipos y sustancias	31
3.4.1 Materiales del laboratorio	31
3.4.2 Equipos	31
3.4.3 Reactivos	31
3.4.4 Material biológico.....	32
3.5 Técnicas y Métodos	32
3.5.1 Recolección de muestras de agua.....	32
3.5.2 Equipo Analítico	32
3.5.3 Análisis de la muestra	33
3.5.4 Preparación de los medios.....	33
3.5.5 Mantenimiento del nematodo <i>Caenorhabditis elegans</i>	35
3.5.6 Sincronización.....	35
3.5.7 Ensayo de Mortalidad	36

CAPÍTULO IV.....	37
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
5. CONCLUSIONES	46
CAPÍTULO VI.....	47
6. RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS.....	48
ANEXOS	55

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1 Áreas de recolección de las muestras	55
Ilustración 2 Recolección de la muestra de la hacienda	55
Ilustración 3 Áreas de recolección de las muestras	56
Ilustración 4. Materiales usados para evaluar CL50 en muestras de agua usando <i>C. elegans</i> de bioindicador	56
Ilustración 5. Muestras de aguas de la Hacienda la Herrera	57
Ilustración 6. Reactivos usado para preparación del medio K	57
Ilustración 7. Preparación de las muestras en dilución de 25%, 50% y 100%	58
Ilustración 8. Preparación de las muestras en dilución de 25%, 50% y 100%	58
Ilustración 9. Traspaso de <i>C. elegans</i> a muestra de agua	59
Ilustración 10. Traspaso de <i>C. elegans</i> en las muestras de agua	59
Ilustración 11. Resultados de la muestra de agua #1	60
Ilustración 12. Resultado del análisis de la muestra #2.....	61
Ilustración 13. Resultados del análisis de la muestra #3	62
Ilustración 14. Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola	63

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Gráfica Probit con intervalos de confianza del 95% para mortalidad (72h) de C. Elegans y concentraciones de la muestra de agua #1 Hacienda La Herrera. 42
- Figura 2.** Gráfica Probit con intervalos de confianza del 95% para mortalidad (72h) de C. Elegans y concentraciones de la muestra de agua #2 Hacienda La Herrera. 43
- Figura 3.** Gráfica Probit con intervalos de confianza del 95% para mortalidad (72h) de C. Elegans y concentraciones de la muestra de agua #3 Hacienda La Herrera. 44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Mortalidad CL50 de <i>Caenorhabditis Elegans</i> en muestra #1 Hacienda "La Herrera"	37
Cuadro 2 Mortalidad CL50 de <i>Caenorhabditis Elegans</i> en muestra #2 Hacienda "La Herrera"	39
Cuadro 3 Mortalidad CL50 de <i>Caenorhabditis Elegans</i> en muestra #3 Hacienda "La Herrera"	41
Cuadro 4 Valores de CL50 e intervalos de confianza al 95% para la muestra# 1 Hacienda Herrera.	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nutrientes necesarios para el crecimiento óptimo del banano.....	19
Tabla 2 Clasificación de los plaguicidas.....	21
Tabla 3 Agroquímicos aprobados para el cultivo en el banano	22
Tabla 4 Cantidad de reactivos que se utilizaron para la obtención del Medio K en 500 ml y 1000 ml	33
Tabla 5 Cantidad de reactivos que se agregan para la preparación del Agar K en 500 y 1000 ml	34

INTRODUCCIÓN

El uso de agroquímicos a nivel mundial ha ido aumentando notoriamente, debido a las actividades agrícolas que se generan, se ha constatado que en las haciendas se dan cultivos de alta y baja producción, por lo cual se requiere de un mayor empleo de agroquímicos según el organismo que afecten, cuya finalidad es eliminar, controlar y evitar plagas, malezas, ácaros, insectos y otros, que perjudiquen la productividad y el rendimiento de los cultivos⁶.

La mala manipulación de los plaguicidas o pesticidas empleados en las bananeras ocasiona un impacto ambiental adverso, debido a que no tienen control de los mismos, la contaminación que generan puede ser difusa y puntual, siendo así que los residuos desechados llegan tanto a brazos de mar, ríos y suelo, provocando la contaminación y muerte de animales marinos⁷. La exposición continua de los plaguicidas afecta al ser humano ocasionando dolor de cabeza, fatiga, enfermedades respiratorias, enfermedad cardiovascular, náuseas e irritaciones en la piel, entre otras.⁸

Por este motivo el nematodo *Caenorhabditis elegans* es usado habitualmente para el análisis de toxicidad, debido a que presenta características a nivel genético, molecular, fisiológico, por su ciclo de vida, reproducción y el mantenimiento que requiere, por el cual se trabaja con diferentes ensayos de mortalidad en distintas diluciones de 100%, 50% y 25%. El objetivo de esta investigación será evaluar la toxicidad en muestras de aguas, determinando CL₅₀ de las actividades bananeras usando como bioindicador al nematodo *Caenorhabditis elegans*, estas muestras son recolectadas en la hacienda “La Herrera” en el cantón de Pasaje, Provincia de El Oro.

CAPÍTULO I

1.1 PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

Unas de las principales actividades agrícolas en la Provincia de El Oro es la del sector bananero, en la cual los plaguicidas se usan desde hace varias décadas y hasta el día de hoy su uso es constante, son bananeras tradicionales o también conocidas como convencionales, su empleo tiene la finalidad de producir la mayor cantidad de banano, para evitar pérdidas en los cultivos, lo que puede ocasionar deterioros a la salud y al medio ambiente^{9,10}. Los residuos que se generan al aplicar los plaguicidas son los mismos que cubren los cultivos y acaban en los canales de agua, provocando contaminación y alterando la calidad del agua¹¹. Por esta razón, el uso del nematodo *C. elegans* como bioindicador para evaluar la toxicidad del agua por medio de muestras de distintos puntos usada en la bananera tradicional, determinando la concentración letal media, por consiguiente, nos permite plantear las siguientes interrogantes en la investigación:

1.1.1 Problema General

¿Es posible evaluar la toxicidad usando el nematodo *C. elegans* como bioindicador en muestras de agua de una bananera tradicional del Cantón Pasaje?

1.1.2 Problemas Específicos

- ¿Existe la presencia de pesticidas organoclorados que sobrepasa los niveles permitidos en las muestras de descargas de aguas de la bananera tradicional?
- ¿Cuál es el porcentaje de mortalidad y la concentración letal media CL_{50} en el nematodo *C. elegans* en las diferentes muestras de agua?
- ¿Existe alguna diferencia significativa de toxicidad en diferentes puntos de muestra de agua de la bananera?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Evaluar la toxicidad en muestras de aguas de la actividad bananera tradicional del Cantón de Pasaje utilizando como bioindicador *Caenorhabditis elegans*.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de los contaminantes organoclorados presentes en las muestras de agua en tres puntos diferentes de muestreo durante el proceso de producción de la fruta en la bananera tradicional.
- Determinar la concentración letal media (Cl₅₀) de las muestras descargas de agua de una bananera tradicional, usando el nematodo *Caenorhabditis elegans*
- Comparar la toxicidad de las muestras de agua de la bananera tradicional estableciendo cuál de ellas presenta el más alto índice de toxicidad.

1.3 HIPÓTESIS

Usando al nematodo *Caenorhabditis elegans* como bioindicador nos permite evaluar la toxicidad del agua que utilizan en los diferentes procesos de producción de la fruta en una bananera tradicional del cantón Pasaje.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Es importante reconocer que la producción de banano se ha incrementado en el país a medida que pasa el tiempo, pero debido a esto se presentan contaminantes que se generan por la conservación y mantenimiento del cultivo, los cuales afectan significativamente al recurso hídrico que se encuentra cerca, el cual debe cumplir con una óptima calidad para la preservación de los ecosistemas y su productividad¹².

Según el informe del sector bananero ecuatoriano de diciembre del 2017 de acuerdo con el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) existen aproximadamente de 162.236 hectáreas de banano en todo el país, los productores van en escala desde menores o pequeños a medianos y grandes productores, los números de productores de pequeños son de 3.480, de medianos productores son de 800 y de grandes productores son de 193 dando como resultado los 4.473 productores de banano².

Los productores al momento de la aplicación de los agroquímicos se encuentren cerca de las descargas de aguas y según el Acuerdo Interministerial Nro. 365 entre el MAE, MSP y DGAC, en el 2015 establece un reglamento de obligatoriedad de que al momento de estas aplicaciones se debe establecer un rango de seguridad de 200 metros dentro de las zonas de cuerpo de aguas dirigido para el consumo humano.¹³

El uso de los agroquímicos en las plantaciones de banano como los plaguicidas se los utilizan para combatir plagas y enfermedades que afecten a la producción de la fruta, debido a la zona tropical en la que se encuentra los cultivos son propensos a estas, lo que a su vez se encuentran distribuidos en el ambiente como en el suelo, aire y el agua causando un cambio adverso en el ambiente^{14,15}.

Debido a estos cambios adversos este trabajo tiene la finalidad de utilizar el nematodo *C. Elegans* como bioindicador para evaluar la toxicidad de muestras de agua de la actividad bananera tradicional que permitan la detección de contaminantes organoclorados y la concentración letal media (CL₅₀) por uso de plaguicidas en la Hacienda “La Herrera” del Cantón Pasaje.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Industria Bananera en la Provincia de El Oro

El sector bananero en la Provincia de El Oro es considerado la actividad de mayor desempeño y de alta productividad de acuerdo con el MAG, es la provincia donde se registra un considerable número de haciendas de producción de banano cuya cifra es de 2375 haciendas, con una representación del 42%, teniendo presente que es la producción de pequeños y medianos productores en el país, debido a que las condiciones son favorables para este tipo de cultivo¹.

En el 2019, las exportaciones de la provincia de El Oro oscilaron el 25% siendo la segunda provincia más productora del país, con una calidad de fruta favorable para ser reconocidas en mercados internacionales. Unas de las más importantes zonas que la provincia que tienen los cultivos de bananos son Arenillas, Barbones, La Libertad, Pasaje, Tenguel y otros^{16,17}.

2.1.1 *Banano convencional*

Para el banano convencional se necesita tomar ciertos controles a las malezas, fitosanitarias y una adecuada nutrición. En el control de malezas se emplean químicos que son indispensables para el sector agrícola, se debe realizar este tipo de control debido a que puede verse alterado la primera fase de producción del banano en su crecimiento ya que el cultivo no tendrá los nutrientes, luz y agua adecuada si existe maleza o también conocida como malas hierbas las mismas que tienen la capacidad de liberar toxinas a través de sus hojas y raíces siendo perjudicial para el cultivo^{18,19}.

El control fitosanitario se basa en control de plagas y enfermedades que afecten el crecimiento normal del cultivo evitando pérdidas, por eso es preciso el uso de grandes cantidades de plaguicidas según el organismo que afecten (fertilizantes, fungicidas, herbicidas, insecticidas, acaricidas, entre otros) y se lo realiza por vía aérea y terrestre¹⁸.

La Sigatoka negra es una de las enfermedades que perjudican la plantación siendo responsable el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, para tener el control de esta enfermedad se usan fungicidas sintéticos que evitan y previenen que las células se reproduzcan y germinen, sistémicos se ejercen como medida preventiva y tienen la finalidad de eliminar dicha enfermedad en la plantación y productos que contengan componentes activos²⁰. Otra de las enfermedades que pueden atacar al cultivo de banano es la Erwinia esta se demora en desarrollar alrededor de 10 meses, esta enfermedad ataca directamente a la planta y si no se controla puede llegar a causar la muerte del cultivo o presentar la pigmentación de las hojas diferentes.

La nutrición en el banano se obtiene del entorno, como el agua, suelo y aire, pero en caso que el desarrollo de las plantaciones no tenga los nutrientes necesarios para continuar con el crecimiento se añaden fertilizantes que promueven los nutrientes que hagan falta y su rendimiento sea el correcto¹⁸. Los nutrientes que necesita el banano se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1. Nutrientes necesarios para el crecimiento óptimo del banano

NUTRIENTES	DESCRIPCIÓN
Nitrógeno (N)	Uno de los principales nutrientes, participa en el proceso de fotosíntesis y el crecimiento de la planta. Las fuentes de nitrógeno que contienen amonio y son aplicadas en el suelo son: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$.
Potasio (K)	Otro nutriente principal, ayuda al proceso del crecimiento de la planta como en la respiración, fotosíntesis, formación de la clorofila y ayuda a regular la cantidad del agua. Las fuentes de potasio que son aplicables en el suelo son: KCl , K_2SO_4 , $\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{MgSO}_4$.
Fósforo (P)	Es primordial en los primeros meses de crecimiento de la planta, forma parte del ATP el que se encarga de transportar energía en dicha planta. Las fuentes de P son: $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ (46% P_2O_5), $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (52% P_2O_5).
Calcio (Ca)	Activador de enzimas y esencial en el proceso de desarrollo de raíces y hojas. Si surge deficiencia de Ca las fuentes aplicables en el suelo son: CaCO_3 y $\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$.
Azufre (S)	Participa en la estructura de proteínas, agrega vitaminas sulfuradas como la biotina, tiamina y coenzima. Las fuentes que se podrían utilizar de S solubles son $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2SO_4 , $\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{MgSO}_4$, MgSO_4 .
Magnesio (Mg)	Sin este elemento la fotosíntesis no podría llevarse a cabo, funciona como activador del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, indispensable para la conducción de fosfatos. Las fuentes de Mg que pueden ser aplicadas en el suelo son el MgSO_4 , $\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{MgSO}_4$, $\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$ y MgO .

Fuente:¹⁸

2.2 Plaguicidas

De acuerdo con la FAO en el artículo 2° estipula que los plaguicidas son las sustancias que intervienen para evitar el contagio y controlar las plagas, se debe establecer que al momento de hacer uso de estos, pueden ocurrir deterioros en la salud o al medio ambiente. Estos plaguicidas son utilizados usualmente para la producción, el crecimiento de plantaciones, la defoliación, la decadencia de la fruta con anticipación y de esa manera preservar la fruta²¹.

Ventajas

Una de las ventajas que presentan los plaguicidas en el sector agrícola es que aportan al mejoramiento de los cultivos eliminando las plagas, malezas y hongos o cualquier otra cosa que interrumpa o dificulte el crecimiento del cultivo, debido a que ayuda a la vitalidad del alimento generando mayor estabilidad en la producción y el rendimiento siendo amplio para el mercado internacional²². Otra ventaja es en la salud pública, debido que el uso de pesticidas se los utiliza en la vida cotidiana como en zonas comerciales, oficinas y domicilios con la finalidad de eliminar, desinfectar y controlar mosquitos, garrapatas, ratones y más, evitando enfermedades²³.

Desventajas

La aplicación afecta a los productores, los plaguicidas contaminan el medio ambiente y causan deterioro a la salud, sus residuos quedan en las superficies del agua, suelo y aire, dañando así el ecosistema, afectando a la persona que lo manipula y comunidades que se encuentren alrededor. Los hacendados deben hacer un cambio en la aplicación, dar capacitaciones a sus servidores para que adquieran técnicas y habilidades lo cual ocasionaría un incremento en los costos de producción^{24,15}.

2.2.1 Características de los plaguicidas

Unas de las características de los plaguicidas es la solubilidad en el agua y en el suelo, se dan por dos categorías como la de baja solubilidad y alta solubilidad:

Baja solubilidad:

- El plaguicida puede tener afinidad por el suelo y almacenarse en él.
- Los plaguicidas pueden mantenerse un largo periodo en el suelo y superficies donde contengan agua.

Alta solubilidad:

- Los plaguicidas pueden tener atracción por el agua y en la mayoría pueden ser solubles en el agua.
- El plaguicida se puede traspasar a superficies y/o subterráneas que contienen agua.

Otra de las características es la degradación de plaguicidas en la cual se pueden encontrar tres tipos como la degradación a través de hongos y bacterias, la degradación por reacciones químicas en el suelo y la degradación de plaguicidas por la luz solar o conocida como fotodegradación²³.

2.2.2 Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas tienen su respectiva clasificación de acuerdo a su naturaleza, a su mecanismo de acción, por los organismos que afectan y la estructura química y además según su toxicidad aguda²⁵. De acuerdo a su estructura química estos son estables su tiempo para su degradación es lento si las condiciones ambientales son exageradas.

Tabla 2 Clasificación de los plaguicidas

Según su naturaleza	Por mecanismo de acción	Por los organismos que afectan	Según su estructura química
Inorgánicos	Contacto	Insecticidas	Derivados por halogenadas de hidrocarburos alicíclicos.
Orgánicos	Ingestión	Acaricidas	
Naturaleza	Fumigante	Fungicidas	Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos.
Sintéticos	Sistémicos	Herbicidas	Derivados halogenados de hidrocarburos ciclodiénicos.

Fuente:^{4,26}

2.2.3 Componentes activos en los plaguicidas usados en Bananeras del Ecuador

Para la industria que se encarga de los bananos o también conocidos como la industria bananera uno de los mayores empleos son los agrotóxicos o también llamados agroquímicos los cuales son necesarios para el proceso del cultivo y a lo largo de ciclo metabólico. Se requiere aproximadamente de 29 componentes activos, los cuales ayudan con el crecimiento de cultivo del banano, en los cuales se los puede encontrar en 114 productos en el mercado o que se encuentra en disposición a la venta en general²⁷. Como ejemplos de estos agrotóxicos está la siguiente tabla:

Tabla 3 Agroquímicos aprobados para el cultivo en el banano

TIPO DE AGROQUÍMICO	COMPONENTES ACTIVOS	
Insecticida	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite mineral/Parafínico • Bifentrina • Cadusafos • Chlorpyrifos • Diazinon 	<ul style="list-style-type: none"> • Fipronil • Malation • Oxamyl • Spinosad • Terbufos
Fungicida	<ul style="list-style-type: none"> • Benomilo • Carbendazim • Clorotalonil • Epoxiconazole • Flusilazol • Imazalil 	<ul style="list-style-type: none"> • Iprovalicarb • Isopyrazam • Mancozeb • Metiram • Thiram • Tridemorph
Herbicida	<ul style="list-style-type: none"> • Diquat e Bromuro • Ion Diquat • Diurin 	<ul style="list-style-type: none"> • Glifosato • Glufosinato de Amonio • Paraquat

Fuente: ²⁷

2.2.4 Plaguicidas Organoclorados

Los plaguicidas organoclorados son solubles en grasa y estructuralmente compatibles con los hidrocarburos aromáticos clorados, algunos de los cuales contienen elementos químicos como O (oxígeno), S (azufre) y un alto nivel de Cl (cloro). Se localizan en ambientes terrestres y acuáticos, tienen una alta durabilidad con una gran cantidad de residuos y son altamente resistentes a la biodegradación y se encuentran en la materia orgánica²⁶. Los principales plaguicidas organoclorados son el DDT, BHC, Aldrina, Dieldrina, Endrina, Heptacloro, Clordano y Toxafeno.

Debido a su rango de distribución y dificultad de biodegradación, estos contaminantes representan una seria amenaza para la salud pública, debido a que pueden mantenerse por muchos años en el entorno²⁸, presentando efectos tóxicos en organismos vivos y quedando residuos en los cultivos y alimentos por lo cual la mayoría de estos plaguicidas están prohibidos en muchos países²⁹. Son compuestos altamente tóxicos que causan deterioro a la salud como teratogénico (malformaciones embrionarias) y cambios en diversas funciones metabólicas y reproductivas, si la exposición al plaguicida ya consta de un largo tiempo así sea leve, puede ocasionar trastornos psiquiátricos³⁰.

2.3 Normativas del uso de plaguicidas en Ecuador

Ecuador tiene tres convenios principales: el Código Orgánico del Ambiente, las Resoluciones de la Agencia de Regulación y el Control Fito y Zoosanitario de Agrocalidad; estos convenios tienen la finalidad de regular y controlar el manejo de plaguicidas y sustancias que requieran supervisión³¹. Por consiguiente algunos de los reglamentos y guías para el uso correcto de los plaguicidas son:

- Reglamento Registro Sanitario Plaguicidas uso doméstico, industrial³².
- Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2078:2013 Plaguicidas y Productos afines de uso agrícola. Manejo y disposición final de envases vacíos tratados con triple lavado³³.
- INEN GUÍA DE PRÁCTICA GP52 para el uso y manejo de herbicidas³⁴.
- Resolución N° 2075 Manual Técnico Andino para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola³⁵.

2.3.1 Plaguicidas prohibidos y restringidos en Ecuador

Los plaguicidas que quedaron restringidos en el año 1992, fueron el Aldrin, Dieldrin, Endrin, Toxafeno, Galecrom, el DDT, DBCP y otros, estos plaguicidas fueron prohibidos por causar deterioro a la salud, son productos nocivos³⁶. Por ejemplo, el Aldrín y el Dieldrín son plaguicidas organoclorados que fueron usados para evitar y controlar los insectos pero causaron deterioro a la salud, debido a que actuaron como veneno estomacal³⁷.

Los productos que causaron deterioro al medio ambiente por ser tóxicos y quedaron prohibidos desde el año 1992 fueron: Methyl Parathion, Dietlyl Parathion, Ethyl Parathion y Dinoseb, son plaguicidas organofosforados que se disuelven con facilidad en grasa y libera su toxicidad de forma lenta por lo que puede permanecer en el suelo, plantas y superficies cercanas al ambiente³⁸.

En el año 1999, los productos que fueron prohibidos son el Aldricarb, Temik que en especial se lo utilizó para el control de insectos, ácaros y para nematodos que pueden aparecen en las plantaciones de banano y evitan el crecimiento y desarrollo del cultivo. Pero sus residuos en el agua generan contaminación, causando daños a la salud y en los alimentos³⁶.

Los plaguicidas como el Captafol, Fluroactamida, HCH, Hexaclorobenceno, Pentaclorofenol en el año 2005 de acuerdo con la Resolución N° 015 quedan prohibidos, debido a que pueden mantenerse en el aire durante mucho tiempo y causar efectos adversos a la salud. Por ejemplo el HCH puede empezar como un dolor de cabeza, pueden alterar los niveles hormonales a los trabajadores que manipulan el plaguicida³⁹.

Para el año 2011, el Endosulfan plaguicida organoclorado y sus mezclas quedaron prohibidas y fue eliminada de la lista de plaguicidas registrados, debido a que es altamente toxico³⁶. En el 2013, el plaguicida Carbofurán quedó prohibido por ser nocivo para el ambiente y deteriorar la salud; a excepción de personas que se encuentren en Agrocalidad, el uso será permitido solo si es del 10% granulado adecuado para cultivos de bananos para el control de *Radopholus similis*, así aumentando su rendimiento en el cultivo y la calidad de la producción, pero las personas tendrán 180 días para registrar este pesticida de acuerdo con la Norma Andina^{36,40}.

Los plaguicidas Metamidofos y sus mezclas, el Alaclor en el año 2015, quedaron restringidos por ser nocivos para la salud y el medio ambiente, en el año 2017 quedó prohibido Trichlorfon y sus mezclas. En el año 2019, de acuerdo con la Norma Andina y PQUA (Plaguicidas químicos de uso agrícola) los plaguicidas Carbendazim y Bemomuil y sus mezclas quedaron prohibidas, causando toxicidad hepática^{35,36}.

2.4 Manejo de plaguicidas utilizados en las bananeras tradicionales

La actividad bananera, es dirigida a la producción y exportación de la fruta, debido a esto se aplican los plaguicidas para controlar plagas y enfermedades. Las bananeras son especialmente vulnerables a la infestación, dado que los cultivos son en áreas tropicales creando condiciones favorables para las plagas⁴¹. La aplicación de plaguicida se da por vía aérea y vía terrestre, para la vía aérea se dan cada 12 a 15 días aproximadamente y la aplicación vía terrestre si son necesarias se dan cada mes.

La Sigatoka negra disminuye el rendimiento del 50% al 35% del cultivo y calidad de la fruta, esto impulsa la maduración anticipada⁴². La contaminación que provoca el empleo frecuente de agroquímicos en las haciendas donde solo se produce un solo cultivo sigue estando presente para la industria bananera. Existen tres tipos de biodegradaciones de los plaguicidas como la degradación a través de hongos y bacterias, la degradación por reacciones químicas en el suelo y la degradación de plaguicidas por la luz solar o conocida como fotodegradación²³.

Los riesgos ambientales y sociales que se tienen por la aplicación de plaguicidas en el sector bananero, significan un alto costo de producción para los productores, debido a que se requiere implementar estrategias para minimizar el uso de pesticidas y actualizar los conocimientos de quienes los manipulan¹⁵.

2.5 Impacto ambiental por el uso de plaguicidas

Cuando se hace referencia al uso de plaguicida se enfoca a la existencia de una problemática en el medio ambiente que debe ser solucionada, los plaguicidas son utilizados en la producción agrícola para el mantenimiento y control de enfermedades en el cultivo y su vez evitar pérdidas y maximizar ganancias, los plaguicidas son muy pesados y contienen diversas impurezas y la gran parte de los residuos del mismo provocan la contaminación de los cuerpos de agua ya sea ríos, lagunas, canales, entre otros⁴³.

Estos pueden afectar al ecosistema seriamente, pueden ser volátiles y pueden llegar de un lugar a otro impactando al medio ambiente afectando su funcionalidad a organismos animales en sus diferentes hábitats y causar daños a la salud de las personas^{8,44}.

El tiempo de vida útil de un plaguicida es de horas, días o años por lo cual pueden permanecer durante mucho tiempo en el ambiente, es usualmente tóxico si se lo usa con mayor frecuencia.

2.6 Contaminación de las aguas por el uso de plaguicidas

La contaminación del agua por el uso de estos plaguicidas pueden generar deterioro a la salud, estas aguas pueden llegar de diversas maneras y pueden tener contaminantes orgánicos persistentes como los plaguicidas organoclorados, los bifenilos policlorados y otros, estos no se eliminan del cuerpo del agua completamente y pueden mantenerse, debido a que su eliminación puede ser compleja por tratamiento convencional⁴⁵.

Otra forma se da a través de la alimentación mediante filtraciones que pueden existir ubicándose en aguas subterránea o superficiales, contaminando zonas agrícolas y ganaderas que se encuentren cerca⁴⁶. Todas estas formas indirecta o directa de contaminación a los recursos hídricos por el uso de plaguicidas, toman mucho tiempo en degradarse y las sustancias o componentes activos pueden provocar efectos adversos a organismos acuáticos, debido a su exposición prolongada⁴⁷.

Por otro lado, los plaguicidas que se encuentran presentes en el agua potable, tienen características relevantes como el olor y sabor que no son apropiados para el consumo, sin importar que la concentración de estos plaguicidas sea mínima⁸.

2.7 *Caenorhabditis elegans*

2.7.1 *Características generales*

El nematodo *Caenorhabditis elegans* en la terminología etimológica significa Caeno (nuevo), habditis (varilla) y elegans (bonita). Usado eventualmente en modelos biológicos como bioindicador, se mantiene en temperaturas templadas, su alimentación es de la bacteria intestinal conocida como *E. coli*, *Bacillus subtilis* y *Saccharomyces cerevisiae*.

Este nematodo tiene un tamaño que oscila los 1 mm de longitud y su diámetro aproximado de 70-80 um, contiene células somáticas entre 1000 y 2000 células, existe el macho y la hermafrodita, la hermafrodita ofrece ventaja por ser una de las más abundantes, su reproducción es por autofecundación y habitualmente se generan hermafroditas^{48,49}.

La producción de los nematodos machos es cruzada, lo que generan las hermafroditas y además de machos, tiene características peculiares como la forma y color de su cuerpo, se denota que su cuerpo es transparente lo cual hace fácil la distinción de las células y órganos, esto se lo puede visualizar de la mejor manera con el uso de las técnicas adecuadas y la ayuda de un microscopio, no representa riesgo biológico y su ciclo de vida es corto⁴⁹. Este nematodo es utilizado como modelo para el estudio toxicológico en donde se realizan pruebas analíticas para la determinación de la calidad de cuerpo de aguas³⁶.

2.7.2 Ciclo de vida

El ciclo de vida del nematodo *C. elegans* en el laboratorio se lo mantiene a temperatura adecuadas a 20°C aproximadamente de tres a cuatro días. Al tercer día comienza el estado embrionario, al cuarto día el nematodo está en larvario de L1 a L4, para así poder estar en su estado de adultez, por cada estado que atraviesa este nematodo es para sintetizar nueva cutícula⁵⁰. Una vez que este llega al estado de adultez, entrara a un estado de letargo y empieza su etapa de fertilidad, es decir que ocurre en su cuarto día y su supervivencia oscila alrededor de los 10 a 15 días y su producción puede ser de hasta 300 embriones, si se llega a reproducir con un macho esta cantidad de embriones puede incrementar⁵¹.

El desarrollo del nematodo en el útero es aproximadamente de 150 minutos y en su primera división su duración es de 40 minutos, luego sigue con la gástrula, el coma, el pliegue 1,5, el pliegue 2, el pliegue 3 y luego de eso comienza la eclosión a L1 con un tamaño de 250 um después de 12 horas empieza la muda L1/L2, la L2 su tamaño es de 360 -380 um, además de L2 luego de 13 horas la Daurer que mide aproximadamente 400 um, si se sigue con la L2 luego de 8 horas se da lo que es la muda L3/L3.

Donde L3 mide de 490 – 510 um y pasa a lo que la L4 luego de 8 horas y mide de 620– 650 um, después de 10 horas para a joven adulto el cual mide 900 – 940 um . Por ultimo transcurrida las 8 horas para a lo que es adulto hermafrodita el que mide 1100 – 1150 um. Estas condiciones ocurren cuando el *C. elegans* está desarrollándose a temperaturas de 22°C^{52,53}.

Es decir, la primera división celular que ocurre se da aproximadamente luego 40 minutos en donde se efectúa la fecundación, posteriormente ocurre lo que es la fertilización luego de 150 minutos y por último la fase de gástrula donde se encuentran con alrededor de 30 células⁵².

2.7.3 Caenorhabditis elegans como modelo de estudios toxicológicos.

Para la valoración de la toxicidad de descargas de agua, se la realiza por medio de ensayos o también denominados bioensayos, estos presentan ciertas ventajas debido a que son económicamente rentable, se proceden a tomar muestras de agua para posteriormente continuar con sus análisis e identificar los efectos tóxicos que se pueden presentar, aplicando técnicas analíticas para la calidad de agua, el nematodo se lo usa para conocer la toxicidad basados en la letalidad⁵⁴ la manipulación, mantenimiento de este nematodo es fácil y su ciclo de vida es corto (máximo de 3 días).

Este nematodo se lo utiliza para analizar los riesgos potenciales de plaguicidas que pueden contener As, Co, Cr, Ni y Pb y de otras sustancias químicas⁵⁵, se utiliza el nematodo *Caenorhabditis elegans*, por tener la capacidad de predecir las respuestas toxicas y una de las ventajas es el tiempo y espacio que se requiere para el manejo de este nematodo⁵⁶.

Uno de los estudios toxicológicos que se generan a partir del nematodo *Caenorhabditis elegans* es el mecanismo de toxicidad de plaguicidas, porque existen más de cien tipos de plaguicidas que cuenta con ingredientes activos e ingredientes inertes que se aplican en el sector agrícola, estos nematodos ayudan para la detección toxicológica que se utiliza en la locomoción, debido a que no son biodegradable y cumple con su objetivo de eliminación de plagas, pero como consecuencias el deterioro del medio ambiente en lo que viene incluido la fauna y principalmente las especies marinas ejemplos, peces^{57,58}.

Para el estudio de toxicidades letales combinadas de pesticidas con estructuras similares a *Caenorhabditis elegans* no son necesariamente aditivos de concentración, en dicho estudio se requirió de tres tipos de pesticidas como lo son los organofosforados, dos carbamatos y dos neonicotinoides con estructuras similares para realizar una comparación con el nematodo y así analizar la toxicidad en microplacas y su letalidad a diferentes concentraciones de dichos pesticidas⁵⁹.

A fin de evaluar la toxicidad los criterios que en su mayoría evalúa son la letalidad, parámetro de locomoción, crecimiento, reproducción y morfología. El nematodo *C. elegans* es usado principalmente en toxicología predictiva una de las áreas potenciales menos exploradas son la de regulación Epigene-c, toxicidad mitocondrial, respuesta inmune innata; otra de las áreas son el *C. elegans* con concordancia demostrada como el envejecimiento, aneuploidía, clasificación LD50, neurotoxicidad y el crecimiento y desarrollo⁶⁰.

CAPÍTULO III

2 METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación

En el presente trabajo de investigación se aplicó procedimientos y métodos que han sido empleado en otros trabajos recopilado de varias revistas científica, por lo cual pertenece a un trabajo cuasi experimental.

3.2 Identificación de variables

3.2.1 *Variables independientes*

- Concentración del compuesto orgánico en las bananeras
- Lugar de obtención de la muestra
- Puntos de obtención de la muestra
- Tiempos de producción

3.2.2 *Variable dependiente*

- Mortalidad del nematodo *C.elegans*

3.3 Población y muestra

3.3.1 *Población*

Agua de la Hacienda La Herrera, en el Cantón Pasaje, perteneciente a la provincia de El Oro.

3.3.2 *Muestra*

Las muestras de descargas de agua fueron tomadas de la Hacienda en tiempos de embarques en diferentes momentos, es decir, muestra 1 al inicio del embarque en el primer lavado del banano, muestra 2 corte del cluster y segundo lavado en piscina, muestra 3 descarga de agua en el canal de riego de la bananera.

3.4 Materiales, equipos y sustancias

3.4.1 *Materiales del laboratorio*

- Cajas Petri
- Probeta
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Frasco de vidrio ámbar de 500 ml
- Micropipetas
- Micro puntas
- Espátula
- Lámpara de alcohol
- Lámpara ultravioleta
- Tubo falcon de 15 ml
- Pipetas Pasteur
- Asa de platino

3.4.2 *Equipos*

- Estufa
- Centrífuga marca Dynac
- Incubadora
- Potenciómetro
- Autoclave modelo YX – 18 LM
- Balanza Analítica
- Refrigerador
- Espectrofotómetro VIS DR 1900

3.4.3 *Reactivos*

- Medio K
- Agar K
- Agua destilada

- Alcohol industrial
- Alcohol potable
- Peptona
- Colesterol
- NaCl
- NaOH
- MgSO₄
- CaCl₂
- HClO

3.4.4 Material biológico

- Nematodo *Caenorhabditis elegans* cepa N2, N3 y N4
- *Escherichia coli* OP50

3.5 Técnicas y Métodos

3.5.1 Recolección de muestras de agua

Se procedió a la recolección de las muestras en la bananera, la primera muestra es la del lavado del banano cuando comienza el embarque, la segunda muestra es después del cluster en su segundo lavado dentro de la piscina y la tercera muestra fue tomada del canal del agua que se encuentra dentro de la bananera. En total se hizo la recolección de 3 muestras, en la hacienda Herrera dentro del Cantón Pasaje.

Estas muestras fueron tomadas como lo establece la Norma INEN 2169:2013 en botellas ámbar en este caso fueron las botellas de vidrio de aspecto oscuro, debido a que ayuda en la reducción de las acciones foto sensitivas, una vez obtenida estas muestras hasta ser transportadas al laboratorio se conservó en hielo y en refrigeración una vez que las muestras llegaron al laboratorio esta se preservan a -10°C⁶¹.

3.5.2 Equipo Analítico

Para la identificación de los plaguicidas organoclorados se lo realiza con ayuda de un Cromatógrafo de Gases.

3.5.3 *Análisis de la muestra*

Las tres muestras de agua de distintos sitios dentro la bananera se desea encontrar si existe presencia de plaguicida organoclorado para lo cual se utilizó el cromatógrafo de gases a una temperatura de 5°C que se lo realizó en colaboración con la Escuela Politécnica Nacional en el Centro de Investigación y Control Ambiental en CICAM – Quito usando el método de referencia de EPA 8270D. Rev. 2007 y EPA 3510C. Rev. 1996.

3.5.4 *Preparación de los medios*

Medio K

El medio K es una solución salina que le brinda óptimas condiciones al *C. Elegans* para el traspaso y es muy utilizado en la elaboración de investigaciones. Para la preparación dependerá de la cantidad que se va a necesitar lo cual se presentará a continuación. La preparación del Medio líquido K se lo realizó mediante las normas protocolo de la CGC⁵².

Tabla 4 Cantidad de reactivos que se utilizaron para la obtención del Medio K en 500 ml y 1000 ml

	KCl	NaCl
500ml	1.18g	1.5g
1000ml	2.36g	3g

Fuente: Autores

Procedimiento para la preparación de medio K

- Colocar en el Erlenmeyer la cantidad requerida de NaCl y KCl
- Agregar el Agua mili Q
- Cubrir la superficie del Erlenmeyer con papel aluminio.
- Colocar en la autoclave por 1 hora.
- Proceder a dejar enfriar y luego rotular nuestro recipiente.

Agar K

Cultivo el cual ayuda al crecimiento y procura establecer que el nematodo permanezca en condiciones adecuadas. Para su preparación se utilizará cierta cantidad de compuesto dependiendo del volumen a obtener⁶².

Tabla 5 Cantidad de reactivos que se agregan para la preparación del Agar K en 500 y 1000 ml

	KCl	NaCl	Peptona	Agar
500 ml	1.18 g	1.5 g	1.25 g	8.5 g
1000ml	2.36 g	3 g	2.5 g	17 g

Fuente: Autores

Procedimiento para la preparación del Agar K.

- Colocar en un Erlenmeyer la cantidad de cada compuesto según los ml que deseamos obtener para posteriormente homogeneizar.
- Con el papel aluminio tapar el Erlenmeyer mientras procedemos a calentar la muestra.
- Poner a la autoclave por 1 hora.
- Dejar enfriar.

Traspaso del Agar K a la caja Petri

- Esterilizar las cajas Petri y la zona de trabajo.
- Verter aproximadamente 20ml de la solución a las cajas Petri.
- Dejar enfriar las cajas Petri y para evitar contaminación de las placas, sellamos con parafinas.
- Rotular y colocar en refrigeración.

3.5.5 *Mantenimiento del nematodo *Caenorhabditis elegans**

De acuerdo con la metodología de los autores Parada, Gualteros y Sánchez y otros autores de otra investigación como García, González, Atariguana y otros hacen referencia el mantenimiento del nematodo es muy fácil de realizar en el laboratorio y sobre todo a muy bajo costo. En condiciones de laboratorio normalmente su alimento son las cepas de la *Escherichia coli* no patógenas⁶³. Se procede a los siguientes pasos para poder llevar su mantenimiento.

- Escoger una de las cajas Petri con el Agar K que anteriormente se preparó.
- Agregar aproximadamente al menos 5 gotas de alimento *Escherichia coli* OP50 con un lapso de tiempo de 48 horas
- Observar con la ayuda de un Espectrofotómetro la caja Petri que presente mayor cantidad de nematodos.
- Colocar en un tubo falcón con el medio K 15ml de para posteriormente llevarlo a una centrifugadora a 2200rpm por dos minutos.
- Dejar decantar durante 5 minutos en hielo y al final removemos el sobrenadante.
- Transferir en una caja Petri para obtener un adecuado crecimiento del *C. Elegans*⁶⁴.

3.5.6 *Sincronización*

Para esta investigación unas de las metodologías usadas hacen referencia a la de García, González, Atariguana y otros, en el cual es necesario sincronizar los nematodos para poder obtener una población desarrollada al mismo tiempo con el fin de obtener resultados validos en su mortalidad.

- Observar y seleccionar las cajas Petri que presenten huevos de los nematodos.
- Traspasar a un tubo falcón de 15 ml los huevos y nematodos con el medio K.
- Centrifugar a 2200 rpm durante dos minutos.
- Dejar reposar en hielo por cinco minutos y eliminar el sobrenadante.
- Añadir 10 ml de solución Bleach.
- Agitar levemente por lapso de 6 minutos, posteriormente colocamos en el centrifugador a 2 minutos a 2200 rpm.
- Desechar el sobrenadante hasta obtener el precipitado.

- Añadir medio K al tubo falcón de 15 ml y agitar.
- Centrifugar a 2200 rpm durante dos minutos.
- Dejar reposar en hielo por cinco minutos y eliminar el sobrenadante hasta dejar 2 ml.
- Añadir 5ml de medio K.
- Centrifugar a 2200 rpm durante dos minutos.
- Dejar reposar en hielo por cinco minutos y eliminar el sobrenadante hasta dejar 2 ml.
- Añadir a las cajas Petri anteriormente preparadas con el respectivo sustrato para los nematodos⁶⁴.

3.5.7 Ensayo de Mortalidad

Para los ensayos de mortalidad se utilizó la referencia el estudio de los autores Parada, Gualteros y Sánchez, por lo cual se emplea los nematodos L4 previamente sincronizados. El traspaso del *C. Elegans* se realizó a las placas de polipropileno de 24 pocillos con la ayuda de la asa de platino. Se realizó un análisis por triplicado al 100, 50 y 25% de concentración de la muestra y un cuarto análisis en blanco con medio K, a cada análisis se le agrego 15 nematodos y la lectura de los organismos fue en el lapso de 8, 24, 48 y 72 horas para poder observar el tiempo de mortalidad⁶³.

CAPÍTULO IV

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 1. Mortalidad CL50 de Caenorhabditis Elegans en muestra #1 Hacienda "La Herrera"

Ensayo de Mortalidad													
Muestra #1 Lavado de Banano													
% Concentración	Expuestos	Tiempo de Exposición											
		8h			24h			48h			72h		
		M	V	%MT	M	V	%MT	M	V	%MT	M	V	%MT
25	15	0	15	-	0	15	-	0	15	-	0	15	4,44
25	15	0	15		0	15		0	15		1	14	
25	15	0	15		0	15		0	15		1	14	
50	15	0	15	-	0	15	2,22	1	14	6,66	2	13	13,33
50	15	0	15		1	14		1	14		2	13	
50	15	0	15		0	15		1	14		2	13	
100	15	1	14	6,66	1	14	6,66	2	13	13,33	3	12	15,55
100	15	1	14		1	14		2	13		2	13	
100	15	1	14		1	14		2	13		2	13	
Blanco	15	0	15	-	0	15		0	15		0	15	
Blanco	15	0	15		0	15		0	15		0	15	
Blanco	15	0	15		0	15		0	15		0	15	

Fuente: Autores

Análisis. Cuadro 1

Para los ensayos de mortalidad, se utilizó 15 nematodos *Caenorhabditis Elegans* para los cuales fueron expuestos a diferentes concentraciones (25, 50, 100%) en tiempos de 8, 24, 48 y 72h en muestras de aguas del lavado del banano. En el cuadro #1 la tasa de mortalidad del *C. Elegans* a concentración del 25% no presentó cambios en las primeras 48 horas, sin embargo a las 72 horas su mortalidad fue de un 4,44%. Para la concentración del 50% no presentó mortalidad en 8 horas, en 24 horas dio una mortalidad del 2,22% mientras que a las 48 horas aumentó a un 6,66%, finalmente a las 72 horas alcanzó el 13,33% de mortalidad. En la concentración al 100% presentó mortalidad del 6,66% en 8 y 24 horas, en 48 horas logró aumentar al 13,33 para finalmente a las 72 horas alcanzar la mayor mortalidad del 15,55%.

Cuadro 2 Mortalidad CL50 de *Caenorhabditis Elegans* en muestra #2 Hacienda "La Herrera"

Ensayo de Mortalidad													
Muestra #2 Piscinas													
% Concentración	Expuestos	Tiempo de Exposición											
		8h			24h			48h			72h		
		M	V	%MT	M	V	%MT	M	V	%MT	M	V	%MT
25	15	0	15		0	15		0	15		0	15	
25	15	0	15	-	0	15	-	0	15	-	0	14	-
25	15	0	15		0	15		0	15		0	14	
50	15	0	15		0	15		0	15		1	13	
50	15	0	15	-	0	15	-	0	15	2,22	1	14	6,66
50	15	0	15		0	15		1	14		1	14	
100	15	1	14		1	14		1	14		3	12	
100	15	0	15	4,44	1	14	6,66	1	14	6,66	2	13	17,77
100	15	1	14		1	14		1	14		3	12	
Blanco	15	0	15		0	15		0	15		0	15	
Blanco	15	0	15	-	0	15		0	15		0	15	
Blanco	15	0	15		0	15		0	15		0	15	

Fuente: Autores

Análisis. Cuadro 2.

En el cuadro #2 no presentó mortalidad del *C. Elegans* en concentración del 25% en las 72 horas. Para el 50% de concentración presentó mortalidad del 2,22% a las 48 horas, mientras que a las 72 horas aumentó al 6,66%. En concentración de muestra del 100% logró presentar un 4,44% de mortalidad en 8 horas y fue aumentando con el tiempo, para las 24 y 48 horas ya presentaba un 6,66%, a las 72 horas presentó la mayor mortalidad de la muestra obteniendo un 17,77%.

Cuadro 3 Mortalidad CL50 de *Caenorhabditis Elegans* en muestra #3 Hacienda "La Herrera"

Ensayo de Mortalidad													
Muestra #3 Canal de Riego.													
% Concentración	Expuestos	Tiempo de Exposición											
		8h			24h			48h			72h		
		M	V	%MT	M	V	%MT	M	V	%MT	M	V	%MT
25	15	0	15	-	0	15	-	0	15	-	1	14	6,66
25	15	0	15		0	15		0	15		1	14	
25	15	0	15		0	15		0	15		1	14	
50	15	0	15	-	0	15	-	1	14	8,88	1	14	6,66
50	15	0	15		0	15		1	14		1	14	
50	15	0	15		0	15		2	13		1	14	
100	15	0	15	-	2	13	13,33	3	12	15,55	3	12	20
100	15	0	15		2	13		2	13		3	12	
100	15	0	15		2	13		2	13		3	12	
Blanco	15	0	15	-	0	15		0	15		0	15	
Blanco	15	0	15		0	15		0	15		0	15	
Blanco	15	0	15		0	15		0	15		0	15	

Fuente: Autores

Análisis. Cuadro #3

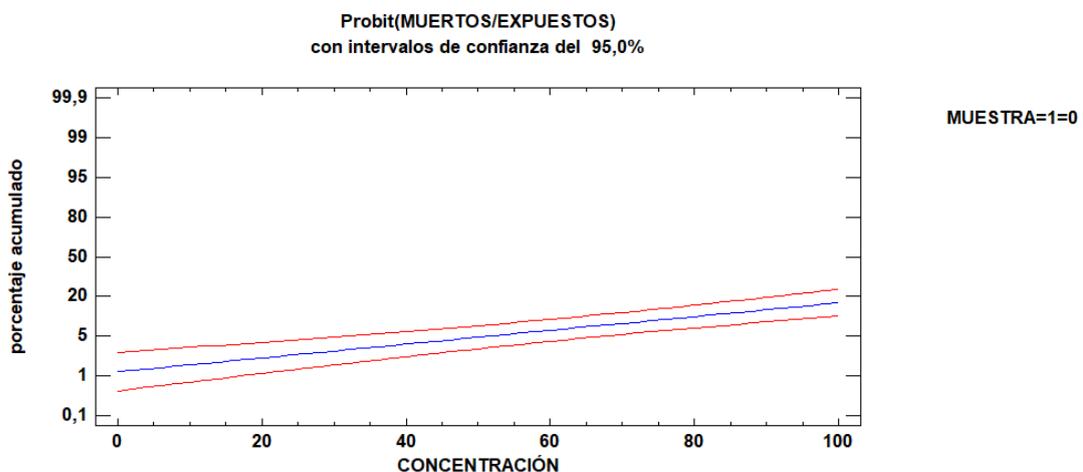
En el cuadro #3 la muestra del canal del riego presentó mortalidad del 6,66% con la concentración del 25% en el tiempo de exposición de 72 horas. Para la concentración del 50% a partir de las 48 horas presento el 8,88% de mortalidad y las 72 horas disminuyo al 6,66%. Con la concentración del 100% se presentó mortalidad en el tiempo de exposición de 24, 48 y 72 horas y los resultados de mortalidad son de 13,33%, 15,55% y 20% respectivamente, siendo el 20% de mortalidad más elevado en esta muestra.

Pese a la baja concentración de compuestos organoclorados (0,005mg/l) presentes las tres muestras, el mismo se encuentra dentro de los límites permisibles establecidos por Tulsma, Libro VI Anexo 1⁶⁵. Se debe aclarar que el pesticida utilizado por la bananera (Aldrín) está prohibido a nivel nacional por su alto nivel de toxicidad y por la afección directa al metabolismo humano causando enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2⁶⁶, además de afecciones al corazón, Parkinson y Alzheimer⁶⁷.

Cuadro 4 Valores de CL50 e intervalos de confianza al 95% para la muestra# 1 Hacienda Herrera.

Concentración letal media (CL50)	LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
166,958	137,402	224,739

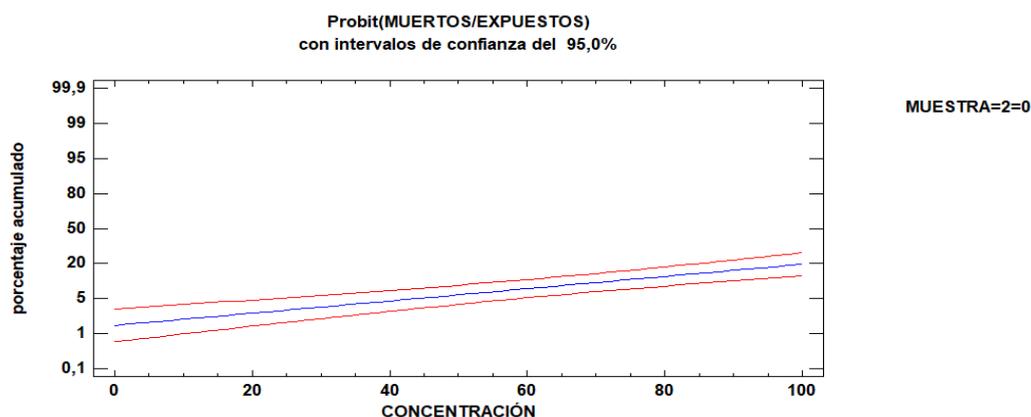
Figura 1. Gráfica Probit con intervalos de confianza del 95% para mortalidad (72h) de *C. Elegans* y concentraciones de la muestra de agua #1 Hacienda La Herrera.



Cuadro 5. Valores de CL50 e intervalos de confianza al 95% para la muestra de agua #2 Hacienda la Herrera.

Concentración letal media (CL50)	LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
158,878	131,251	212,711

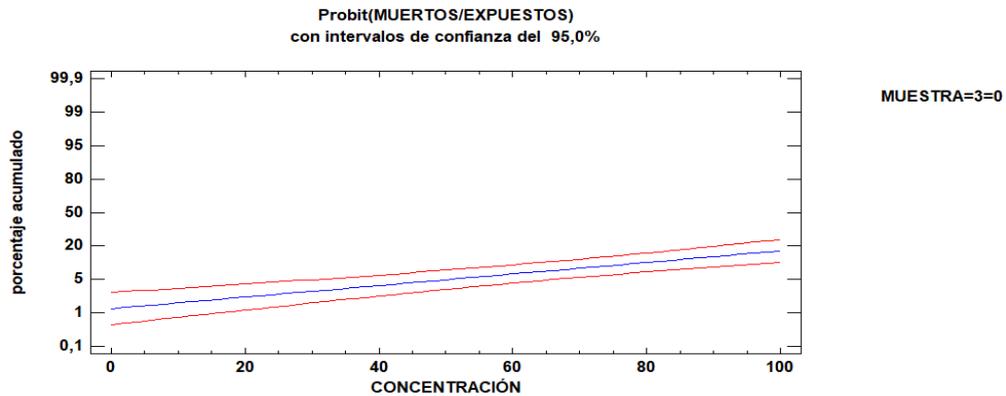
Figura 2. Gráfica Probit con intervalos de confianza del 95% para mortalidad (72h) de *C. Elegans* y concentraciones de la muestra de agua #2 Hacienda La Herrera.



Cuadro 6. Valores de CL50 e intervalos de confianza al 95% para la muestra de agua #3 Hacienda la Herrera.

Concentración letal media (CL50)	LC Inferior 95,0%	LC Superior 95,0%
166,711	137,183	224,478

Figura 3. Gráfica Probit con intervalos de confianza del 95% para mortalidad (72h) de *C. Elegans* y concentraciones de la muestra de agua #3 Hacienda La Herrera.



En las figuras (1, 2 y 3) se dan a conocer mediante las gráficas Probit, los valores que pertenecen al CL50 de las tres muestras de agua de la Hacienda la Herrera evaluadas en un tiempo de 72 h, con un intervalo de confianza del 95%.

Con la obtención de las gráficas se ha demostrado que el efecto tóxico de los pesticidas aplicados en las bananeras están por debajo de la normativa nacional, las muestras que presentan una mayor toxicidad para el *C. Elegans* se dio en un tiempo de 72 horas para las tres muestras con una letalidad del 166,958; 158,878; 166,711.

DISCUSIÓN

Los nematodos fueron expuestos a concentraciones de 25, 50 y 100% de la muestra extraída, se tomaron lecturas en tiempo de 8, 24, 48 y 72h para poder registrar su supervivencia. Se pudo evidenciar un CL_{50} una ligera diferencia de mortalidad entre las muestras (1 y 3). De acuerdo con las muestras de aguas analizadas la concentración del compuesto organoclorado como es el Aldrín, alcanzó concentraciones bajas ($<0,005$) que está dentro de los límites permisibles establecido por Tulsma, Libro VI Anexo 1. Es por esto que presentó una baja mortalidad en los nematodos.

De acuerdo con Marquez, Cardenas y Guevara demostró que el estudio acerca de los plaguicidas organoclorados en aguas y sedimentos, señalaron que el plaguicida organoclorado (Aldrín) puede absorberse por el sedimento y una vez alcanzado su saturación, ocurre la desorción química liberando el compuesto al agua a baja concentración, lo que indica que existe una mayor concentración en el sedimento que en el agua⁶⁸.

El Aldrín es un compuesto que a pesar de estar presente a bajas concentraciones puede causar daños irreversibles a los humanos y animales. Otro estudio realizado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo para comprobar la toxicología a la exposición del Adrín, comprobó que una muestra analizada que presente un CL_{50} 150 a 1250 (mg/kg) puede causar toxicidad aguda a los animales. Se demostró que en ensayos a humanos causan daños a largo plazo con concentraciones de 1 a 3 mg/m^3 dañando el hígado, riñón y al sistema respiratorio⁶⁹.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

- Mediante el análisis de las tres muestras de aguas para la identificación de los plaguicidas organoclorados se obtuvo $<0,005$ mg/l los cuales se encuentran dentro de los límites permisibles del Libro VI Anexo 1 del Tulsma, cabe hacer mención que este tipo de plaguicida son resistentes y se pueden mantener por mucho tiempo en el entorno.
- Se determinó la concentración letal media (CL_{50}) mediante los ensayos de mortalidad usando el bioindicador *C. elegans* que se realizaron en las tres diferentes muestras de agua en la actividad bananera con intervalos de confianza del 95% con un tiempo de exposición hasta 72 horas cuya letalidad para la primera muestra es de 166,958 en la segunda muestra fue de 158,878 y la tercera de 166,711, es decir que se requiere una mayor concentración a las que fueron expuestas (100%) para lograr la mortalidad del 50% de los nematodos tratados.
- Con los valores obtenidos de intervalos de confianza del 95% en las diferentes muestras se puede identificar que no hubo diferencia significativa de la tasa de mortalidad entre los resultados obtenidos, la muestra #1 representa el más alto índice de toxicidad en comparación a las otras 2 durante 72 horas de exposición, pero este resultado está por debajo de los límites permisibles del efecto tóxico de aplicación de plaguicidas.

CAPÍTULO VI

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que los productores adquieran nuevas tecnologías que ayuden con la calidad del agua como la implementación de Agitación, Aireación y agentes oxidantes como H_2O_2 , los cuales resultan eficientes para la eliminación de contaminantes que aún se encuentren en el agua luego de terminar todo el proceso de producción de banano, para así cumplir con los requisitos de una buena gestión ambiental y social.
- Para futuras investigaciones se debería evaluar los sedimentos dentro y cerca de las bananeras y en especial lo que están cerca de los canales de riego, debido a que están más expuestas a contaminantes que pueden presentar daños adversos a largo plazo, para determinar CL_{50} se necesitará de un mayor porcentaje (100%) de la muestra para demostrar la letalidad.
- Se deberá tener presente y exponer a los productores cuáles son los tipos de plaguicidas que están prohibidos y restringidos su uso, debido a que son nocivos o peligrosos en algunos casos para que conozcan que tipo de plaguicidas usan y cuál será la correcta manipulación.

REFERENCIAS

- (1) Gonzalez, J. El Oro concentra el 41% de las fincas <https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/eloro-fincas-banano-exportacion.html>.
- (2) Ministerio de Comercio Exterior. *Informe Sector Bananero Ecuatoriano*; 2017; Vol. 53.
- (3) Polat, B.; Tiryaki, O. Determination of Some Pesticide Residues in Conventional-Grown and IPM-Grown Tomato by Using QuEChERS Method. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **2019**, *54* (2), 112–117. <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1531663>.
- (4) Hassaan, M. A.; El Nemr, A. Pesticides Pollution: Classifications, Human Health Impact, Extraction and Treatment Techniques. *Egypt. J. Aquat. Res.* **2020**, *46* (3), 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>.
- (5) Stackpoole, S. M.; Shoda, M. E.; Medalie, L.; Stone, W. W. Pesticides in US Rivers: Regional Differences in Use, Occurrence, and Environmental Toxicity, 2013 to 2017. *Sci. Total Environ.* **2021**, *787* (xxxx), 147147. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147147>.
- (6) Hidalgo, J. La Situación Actual de La Sustitución de Insumos Agroquímicos Por Productos Biológicos Como Estrategia En La Producción Agrícola: El Sector Florícola Ecuatoriano, 2017.
- (7) Benitez Campos, N.; Vivas Zarate, D. H.; Rosero Hernandez, E. D. Toxicidad de Los Principales Plaguicidas Utilizados En El Municipio de Popayán, Usando Bacillus Subtillis. *Fac. Ciencias Agropecu.* **2009**, *7* (1), 16–22.
- (8) del Puerto Rodríguez, A. M.; Suárez Tamayo, S.; Palacio Estrada, D. E. Efectos de Los Plaguicidas Sobre El Ambiente y La Salud. *Rev. Cubana Hig. Epidemiol.* **2014**, *52* (3), 372–387.
- (9) Hasanuzzaman, M.; Rahman, M. A.; Salam, M. A. Identification and Quantification of Pesticide Residues in Water Samples of Dhamrai Upazila, Bangladesh. *Appl. Water Sci.* **2017**, *7* (6), 2681–2688. <https://doi.org/10.1007/s13201-016-0485-1>.
- (10) Abong’o, D. A.; Wandiga, S. O.; Jumba, I. O. Occurrence and Distribution of Organochlorine Pesticide Residue Levels in Water, Sediment and Aquatic Weeds in the Nyando River Catchment, Lake Victoria, Kenya. *African J. Aquat. Sci.* **2018**, *43* (3), 255–270. <https://doi.org/10.2989/16085914.2018.1490244>.
- (11) Kronberg, M. F.; Clavijo, A.; Moya, A.; Rossen, A.; Calvo, D.; Pagano, E.; Munarriz, E.

- Glyphosate-Based Herbicides Modulate Oxidative Stress Response in the Nematode *Caenorhabditis Elegans*. *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* **2018**, 214 (April), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.08.002>.
- (12) Fournier, M. L.; Castillo, L. E.; Ramírez, F.; Moraga, G.; Ruepert, C. Evaluación Preliminar Del Área Agrícola y Su Influencia Sobre La Calidad Del Agua En El Golfo Dulce, Costa Rica. *Rev. Ciencias Ambient.* **2018**, 53 (1), 92. <https://doi.org/10.15359/rca.53-1.5>.
- (13) MAE. *Reglamento Interministerial Para El Saneamiento Ambiental Agrícola*; 2015.
- (14) Sidhu, G. K.; Singh, S.; Kumar, V.; Dhanjal, D. S.; Datta, S.; Singh, J. Toxicity, Monitoring and Biodegradation of Organophosphate Pesticides: A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2019**, 49 (13), 1135–1187. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1565554>.
- (15) FAO. Manejo de Pesticidas En La Industria Bananera. *Foro Mund. Banan.* - **2017**, 5.
- (16) Salcedo, V.; Campuzano, J.; Uriguen, P.; Plaza, J. Responsabilidad Social Empresarial En El Sector Bananero de La Provincia de El Oro – Ecuador. *Rev. Ciencias Soc.* **2021**, XXVII (3). <https://doi.org/10.31876/rcs.v27i3.36778>.
- (17) Crespo, M.; Zambrano, Á.; Sotomayor, K. Enfoque Gerencial de Las Micro, Pequeñas y Medianas Empresas En El Sector Bananero En La Provincia de El Oro. *Univ. y Soc.* **2018**, 10 (2), 14–20.
- (18) Narvaez, A.; Espinosa, D. Análisis Comparativo Entre Los Sistemas de Producción de Banano Orgánico y Convencional En El Oro, Ecuador, 2021.
- (19) FAO. *Recomendaciones Para El Manejo de Malezas*; 2008; Vol. 1.
- (20) González, A. Practicas Ambientales y Competitividad de Las PYMES Bananeras Del Cantón Machala. *Adv. Opt. Mater.* **2018**, 10 (1), 1–9.
- (21) FAO. Eliminación de grandes cantidades de plaguicidas en desuso en los países en desarrollo- Colección FAO: Eliminación de plaguicidas -4 <https://www.fao.org/3/w1604s/w1604s00.htm>.
- (22) Plenge-Tellechea, F.; Sierra-Fonseca, J. A.; Castillo-Sosa, Y. A. Riesgos a La Salud Humana Causados Por Plaguicidas. *Tecnociencia Chihuahua* **2017**, 1 (3), 4–6.
- (23) Tudi, M.; Ruan, H. D.; Wang, L.; Lyu, J.; Sadler, R.; Connell, D.; Chu, C.; Phung, D. T. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, 18 (3), 1–24.

<https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>.

- (24) Bian, T.; Zhu, X.; Guo, J.; Zhuang, Z.; Cai, Z.; Zhao, X. Toxic Effect of the Novel Chiral Insecticide IPP and Its Biodegradation Intermediate in Nematode *Caenorhabditis Elegans*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2018**, *164* (April), 604–610. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.059>.
- (25) Calva, L. G.; Torres, M. del R. Plaguicidas Organoclorados. *ResearchGate* **2019**, 35–36.
- (26) Díaz, O.; Betancourt, C. Los Pesticidas: Clasificación, Necesidad de Un Manejo Integrado y Alternativas Para Reducir Su Consumo Indebido: Una Revisión. *Rev. Científica Agroecosistemas* **2018**, *6* (2), 14–30.
- (27) Acción Ecológica. *PLANTACIONES AGROINDUSTRIALES Y AGROTÓXICOS EN EL ECUADOR El Caso de Las Plantaciones Bananeras*; 2020.
- (28) Cárdenas-Izaguirre, S. F.; Márquez-Romance, A. M.; Guevara-Pérez, E. Variation Analysis of Organochlorine Pesticides in Waters and Sediments from a Tropical River. *DYNA* **2021**, *88* (216), 203–209. <https://doi.org/10.15446/dyna.v88n216.86802>.
- (29) Jidauna, S. B.; Edziyie, R.; Champion, B. B. Spatio-Temporal Distribution of Organochlorine Pesticide Residues in Water and Sediments of Tropical Reservoirs: A Case Study of Bui Reservoir, Ghana. *African J. Aquat. Sci.* **2020**, 421–430. <https://doi.org/10.2989/16085914.2019.1707430>.
- (30) Gonzaga, C. W. P.; Baldo, M. P.; Caldeira, A. P. Exposure to Pesticides or Agroecological Practices: Suicidal Ideation among Peasant Farmers in Brazil's Semi-Arid Region. *Cienc. e Saude Coletiva* **2021**, *26* (9), 4243–4252. <https://doi.org/10.1590/1413-81232021269.09052020>.
- (31) Ministerio del Ambiente y Agua. Guía para la gestión adecuada de plaguicidas <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2021/01/Guia-para-la-gestion-adecuada-de-plaguicidas.pdf>.
- (32) ARCSA. *Reglamento Registro Sanitario Plaguicidas Uso Doméstico, Industrial*; 2015.
- (33) INEN. *Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2078 : 2013 Plaguicidas Y Productos Afines De Uso Agrícola. Manejo y Disposición Final de Envases Vacíos Tratados Con Triple Lavado.*; 2013.
- (34) INEN. *Guía de Práctica GP52 Para El Uso y Manejo de Herbicidas*; 1993.
- (35) Comunidad Andina. *Manual Técnico Andino Para El Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola*; 2019; Vol. 26.

- (36) AGROCALIDAD. Plaguicidas Prohibidos en el Ecuador, <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/Plaguicidas-prohibidos-en-Ecuador-1.pdf>.
- (37) Instituto Nacional de Ciencias de Salud Ambiental. *Aldrín y Dieldrín Guía Para La Salud y La Seguridad*; 1996.
- (38) Jaga, K.; Dharmani, C. Methyl Parathion: An Organophosphate Insecticide Not Quite Forgotten. *Rev. Environ. Health* **2006**, *21* (1), 57–67. <https://doi.org/10.1515/REVEH.2006.21.1.57>.
- (39) Agency for toxic substances and disease registry. Public Health Statement:Hexachlorocyclohexane <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp88-c1-b.pdf>.
- (40) Ecuauímica. Carbofuran-Furadan http://ecuanoticias.ec/carbofuran_arroz.html.
- (41) March, G. J. *Agricultura y Plaguicidas : Un Análisis Global*; 2014; Vol. 148.
- (42) INTAGRI. Manejo de La Sigatoka Negra En Banano. *Artículos Técnicos de INTAGRI* **2018**, No. 48, 7.
- (43) Ribeiro, P.; Faroni, L. R.; Heleno, F.; Queiroz, M.; Prates, L. Determination of the Pesticides Inwater Used in the Cultutre and Processing of Potatoes. **2020**, *43* (8), 1026–1034. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170577>.
- (44) Jacques, M.; Oliveria, J.; Campos, E.; Fraceto, L.; Silva, D. Safety Assessment of Nanopesticides Using the Roundworm *Caenorhabditis Elegans*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2017**, *139* (August 2016), 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.045>.
- (45) Cybulski, J.; Witczak, A.; Pokorska-Niewiada, K. The Effect of Water and Sewage Treatment on Reducing Residues of Selected Organochlorine Pesticides in Szczecin (Poland). *Water. Air. Soil Pollut.* **2021**, *232* (8). <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05261-6>.
- (46) Artega Palomo, G.; Marrugo Negrete, J. L.; Sanchez Castellón, J. G. Plaguicidas En Canales de Riego Del Distrito de La Doctrina (Córdoba-Colombia). *Temas Agrar.* **2018**, *23* (1), 29–36.
- (47) Windsor, F. M.; Ormerod, S. J.; Tyler, C. R. Endocrine Disruption in Aquatic Systems: Up-Scaling Research to Address Ecological Consequences. *Biol. Rev.* **2018**, *93* (1), 626–641. <https://doi.org/10.1111/brv.12360>.
- (48) Ghanta, K. S.; Ishidate, T.; Mello, C. C. Microinjection for Precision Genome Editing in *Caenorhabditis Elegans*. *STAR Protoc.* **2021**, *2* (3), 100748.

<https://doi.org/10.1016/j.xpro.2021.100748>.

- (49) Karengera, A.; Bao, C.; Riksen, J. A. G.; van Veelen, H. P. J.; Sterken, M. G.; Kammenga, J. E.; Murk, A. J.; Dinkla, I. J. T. Development of a Transcription-Based Bioanalytical Tool to Quantify the Toxic Potencies of Hydrophilic Compounds in Water Using the Nematode *Caenorhabditis Elegans*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, 227 (September), 112923. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112923>.
- (50) Tejeda-Benitez, L.; Olivero-Verbel, J. *Caenorhabditis Elegans, a Biological Model for Research in Toxicology*; 2016; Vol. 237. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23573-8_1.
- (51) Queirós, L.; Pereira, J. L.; Gonçalves, F. J. M.; Pacheco, M.; Aschner, M.; Pereira, P. *Caenorhabditis Elegans* as a Tool for Environmental Risk Assessment: Emerging and Promising Applications for a “Nobelized Worm.” *Crit. Rev. Toxicol.* **2019**, 49 (5), 411–429. <https://doi.org/10.1080/10408444.2019.1626801>.
- (52) Larre, L. *Uso Del Modelo Experimental Caenorhabditis Elegans Para El Estudio de Incorporación de Selenocisteína En Proteínas*, Universidad de la República, 2014.
- (53) Hall, D.; Herndon, L.; Altun, Z. *Introduction to C. elegans Embryo Anatomy*. <https://doi.org/doi:10.3908/wormatlas.4.1>.
- (54) Wittkowski, P.; Marx-Stoelting, P.; Violet, N.; Fetz, V.; Schwarz, F.; Oelgeschläger, M.; Schönfelder, G.; Vogl, S. *Caenorhabditis Elegans* As a Promising Alternative Model for Environmental Chemical Mixture Effect Assessment - A Comparative Study. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, 53 (21), 12725–12733. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03266>.
- (55) Defarge, N.; Spiroux de Vendômois, J.; Séralini, G. E. Toxicity of Formulants and Heavy Metals in Glyphosate-Based Herbicides and Other Pesticides. *Toxicol. Reports* **2018**, 5 (December 2017), 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.025>.
- (56) Raley-Susman, K.; Chou, E.; Lemoine, H. Use of the Model Organism *Caenorhabditis Elegans* to Elucidate Neurotoxic and Behavioral Effects of Commercial Fungicides. *Intech* **2016**, 1, 13. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.70994> Abstract.
- (57) Medina, M. B.; Munitz, M. S.; Resnik, S. L. Validation and Expanded Uncertainty Determination of Pesticides in Water; and Their Survey on Paddy Rice Irrigation Water from Argentina. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **2020**, 55 (11), 983–989. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1807262>.
- (58) Hamm, J.; Sullivan, K.; Clippinger, A. J.; Strickland, J.; Bell, S.; Blaauboer, B.; Casey, W.; Dorman, D.; Forsby, A.; Gehen, S.; Graepel, R.; Hotchkiss, J.; Lowit, A.; Matheson, J.; Reaves, E.; Scarano, L.; Sprankle, C.; Tunkel, J.; Wilson, D.; Zhu, H.; Allen, D.

- Alternative Approaches for Identifying Actue Systemic Toxicity: Moving from Research to Regulatory. **2017**, *41*, 245–259. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.01.004>.
- (59) Huang, P.; Liu, S. S.; Xu, Y. Q.; Wang, Y.; Wang, Z. J. Combined Lethal Toxicities of Pesticides with Similar Structures to *Caenorhabditis Elegans* Are Not Necessarily Concentration Additives. *Environ. Pollut.* **2021**, *286* (April), 117207. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117207>.
- (60) Hunt, P. R.; Camacho, J. A.; Sprando, R. L. *Caenorhabditis Elegans* for Predictive Toxicology. *Curr. Opin. Toxicol.* **2020**, *23–24*, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2020.02.004>.
- (61) INEN. *Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169: 2013 Agua, Calidad de Agua, Muestreo Manejo y Conservación de Muestras.*; 2013; p 26.
- (62) Dominguez, R.; Pogo, C. Uso Del Nematodo *Caenorhabditis Elegans* Como Modeloexperimental Para Determinar Grado De Toxicidad Enrelaves Mineros Del Cantón Portovelo. **2019**, 1–60.
- (63) Parada Ferro, L. K.; Gualteros Bustos, A. V.; Sánchez Mora, M. R. Caracterización Fenotípica de La Cepa N2 de *Caenorhabditis Elegans* Como Un Modelo En Enfermedades Neurodegenerativas. *Nova* **2017**, *15* (28), 69. <https://doi.org/10.22490/24629448.2080>.
- (64) García, E.; González, V.; Atariguana, G.; Núñez, T.; Pesántez, F.; González, K. Evaluación In Vitro Del Potencial Antihelmíntico de Extractos de *Plantago Major* y Semillas de *Carica Papaya* , Usando Como Modelo Experimental *Caenorhabditis Elegans*. *Cienc. Invest.* **2019**, *22* (2), 9–16. <https://doi.org/10.15381/ci.v22i2.17610>.
- (65) M. Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes : Recurso Agua. *TULAS Texto unificado Legis. Secund. del Minist. del Ambient.* **2011**, 8–9.
- (66) Belteton Martinez, W. R.; Hernández-Ávila, C.; Argueta, E.; Suarez Tamayo, S.; Romero Pláceres, M. Presencia de Plaguicidas Organoclorados En Sangre, El Salvador. *Alerta, Rev. científica del Inst. Nac. Salud* **2020**, *3* (2). <https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9034>.
- (67) Lans-Ceballos, E.; Lombana Gomez, M.; Pinedo-Hernández, J. Residuos de Pesticidas Organoclorados En Leche Pasteurizada Distribuida En Montería, Colombia. *Rev. Salud Pública* **2018**, *20* (2), 208–214. <https://doi.org/10.15446/rsap.v20n2.51175>.
- (68) Marquez, A. M.; Cardenas, S.; Guevara, E. Variation Analysis of Organochlorine Pesticides in Waters and Sediments from a Tropical River. *DYNA* **2021**, *88* (216), 203–209. <https://doi.org/10.15446/dyna.v88n216.86802>.

- (69) *INSST. DOCUMENTACIÓN TOXICOLÓGICA PARA EL ESTABLECIMIENTO DEL LÍMITE DE EXPOSICIÓN PROFESIONAL DEL ALDRIN; 2015.*

ANEXOS

Anexos en el área de recolección de muestras



Ilustración 1 Áreas de recolección de las muestras



Ilustración 2 Recolección de la muestra de la hacienda



Ilustración 3 Áreas de recolección de las muestras

Anexos en el laboratorio



Ilustración 4. Materiales usados para evaluar CL50 en muestras de agua usando C. elegans de bioindicador



Ilustración 5. Muestras de aguas de la Hacienda la Herrera



Ilustración 6. Reactivos usado para preparación del medio K



Ilustración 7. Preparación de las muestras en dilución de 25%, 50% y 100%



Ilustración 8. Preparación de las muestras en dilución de 25%, 50% y 100%



Ilustración 9. Traspaso de C. elegans a muestra de agua



Ilustración 10. Traspaso de C. elegans en las muestras de agua

Anexo del análisis de agua para la identificación de plaguicidas organoclorados



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y CONTROL AMBIENTAL
 Campus Politécnico "José Rubén Orellana Ricaurte" • Calle Ladrón de Guevara E 11-253, Edificio Nro. 11
 RUC: 1760005620001 Tel.: (+593-2) 2976300 Ext.: 2151 • Línea directa: (+593-2) 3938864
 Apartado 17-01-2759 • E-mail: cicam@epn.edu.ec • Quito – Ecuador



INFORME DE RESULTADOS

Fecha: 16 de diciembre de 2021

No.IRS-21-577

DATOS DEL CLIENTE:

Nombre del Cliente: Victor Hugo Gonzalez Carrasco
 Nombre del Representante Legal: -
 RUC: 0702323809
 Dirección: Machala
 Teléfono convencional: -
 Teléfono celular: 993282896
 Correo electrónico: vgonzalez@utmachala.edu.ec

DATOS DEL LABORATORIO:

Fecha de recepción: 2021-12-01
 No. Oferta de Servicio: OF21-316
 No. Solicitud de trabajo: ST-21-171
 Tipo de servicio: Servicio de ensayo para evaluación de la calidad
 Código de la muestra: MS-21-577
 Lugar de análisis: CICAM - Quito - Ladrón de Guevara E11-253
 Fecha de análisis: 02 al 16 de diciembre de 2021
 Temperatura de ingreso al laboratorio: 5,0°C

DATOS DE LA MUESTRA SUMINISTRADOS POR: CLIENTE

Nombre del Proyecto: -
 Fecha de muestreo: -
 Rotulación de la muestra: 1
 Tipo de muestreo: Puntual
 Tipo de muestra: Agua
 Lugar de muestreo: -
 Origen de la muestra: -
 Responsable de muestreo: Cliente

Tipo de envase: Plástico
Nº de envases: 1
Preservante: No

PARÁMETRO	MÉTODO DE REFERENCIA/ MÉTODO INTERNO	UNIDAD	RESULTADO
^(b) Organoclorados	EPA 8270 D, Rev. 04, 2007 EPA 3510 C, Rev. 03, 1996	mg/L	< 0,005

SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Ed: Edición. PE: Procedimiento de Ensayo interno. N/A: No aplica.

Acreditaciones:

^(b) Parámetro subcontratado acreditado: ALS ECUADOR ALSECU S.A, según SAE LEN 05-005. Alcance específico de la acreditación: www.acreditacion.gob.ec
 Mayor información respecto a los métodos, incertidumbres de medición y alcance de la acreditación de los parámetros se encuentra disponible en caso de ser solicitado.

Observaciones:

Organoclorados analizados y sus resultados: Aldrin <0,005 mg/l.

Nota:

Este informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo bajo las condiciones recibidas
 La información completa de la medición de este ensayo se encuentra disponible para el cliente, cuando lo requiera
 La incertidumbre de la medición de este ensayo se encuentra disponible para el cliente, cuando lo requiera
 El laboratorio no se responsabiliza por la información proporcionada por el cliente que puedan afectar la validez de los resultados
 En caso de que esta información sea solicitada por ley o disposiciones contractuales se notificará al cliente en forma previa
 Prohibida la reproducción parcial de este informe



Firmado electrónicamente por:
JAIRO ENRIQUE
JIMPIKIT
CHUINTIAM

Revisado por: Jairo Jimpikit
RESPONSABLE TÉCNICO



Firmado electrónicamente por:
GRETA CAROLA
FIERRO NARANJO

Aprobado por: MSc. Carola Fierro
COORDINADORA DE LABORATORIO

Ilustración 11. Resultados de la muestra de agua #1



INFORME DE RESULTADOS

Fecha: 16 de diciembre de 2021

No.IRS-21-578

DATOS DEL CLIENTE:

Nombre del Cliente: Victor Hugo Gonzalez Carrasco
 Nombre del Representante Legal: -
 RUC: 0702323809
 Dirección: Machala
 Teléfono convencional: -
 Teléfono celular: 993282896
 Correo electrónico: vgonzalez@utmachala.edu.ec

DATOS DEL LABORATORIO:

Fecha de recepción: 2021-12-01
 No. Oferta de Servicio: OF21-316
 No. Solicitud de trabajo: ST-21-171
 Tipo de servicio: Servicio de ensayo para evaluación de la calidad
 Código de la muestra: MS-21-578
 Lugar de análisis: CICAM - Quito - Ladrón de Guevara E11-253
 Fecha de análisis: 02 al 16 de diciembre de 2021
 Temperatura de ingreso al laboratorio: 5,0°C

DATOS DE LA MUESTRA SUMINISTRADOS POR: CLIENTE

Nombre del Proyecto:	-	Tipo de envase:	N°de envases:	Preservante:
Fecha de muestreo:	-	Plástico	1	No
Rotulación de la muestra:	2			
Tipo de muestreo:	Puntual			
Tipo de muestra:	Agua			
Lugar de muestreo:	-			
Origen de la muestra:	-			
Responsable de muestreo:	Cliente			

PARÁMETRO	MÉTODO DE REFERENCIA/ MÉTODO INTERNO	UNIDAD	RESULTADO
^(b) Organoclorados	EPA 8270 D, Rev. 04, 2007 EPA 3510 C, Rev. 03, 1996	mg/L	< 0,005

SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Ed: Edición. PE: Procedimiento de Ensayo interno. N/A: No aplica.

Acreditaciones:

^(b) Parámetro subcontratado acreditado: ALS ECUADOR ALSECU S.A, según SAE LEN 05-005. Alcance específico de la acreditación: www.acreditacion.gob.ec
 Mayor información respecto a los métodos, incertidumbres de medición y alcance de la acreditación de los parámetros se encuentra disponible en caso de ser solicitado.

Observaciones:

Organoclorados analizados y sus resultados: Aldrín <0,005 mg/l.

Ilustración 12. Resultado del análisis de la muestra #2



ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y CONTROL AMBIENTAL

Campus Politécnico "José Rubén Orellana Ricuarte" • Calle Ladrón de Guevara E. 11-253, Edificio Nro. 11
RUC: 1760005620001 Tel.: (+593-2) 2976300 Ext.: 2151 • Línea directa: (+593-2) 3938864
Apartado 17-01-2759 • E-mail: cicam@epn.edu.ec • Quito - Ecuador



INFORME DE RESULTADOS

Fecha: 16 de diciembre de 2021

No.IRS-21-579

DATOS DEL CLIENTE:

Nombre del Cliente: Victor Hugo Gonzalez Carrasco
Nombre del Representante Legal: -
RUC: 0702323809
Dirección: Machala
Teléfono convencional: -
Teléfono celular: 993282896
Correo electrónico: vgonzalez@utmachala.edu.ec

DATOS DEL LABORATORIO:

Fecha de recepción: 2021-12-01
No. Oferta de Servicio: OF21-316
No. Solicitud de trabajo: ST-21-171
Tipo de servicio: Servicio de ensayo para evaluación de la calidad
Código de la muestra: MS-21-579
Lugar de análisis: CICAM - Quito - Ladrón de Guevara E11-253
Fecha de análisis: 02 al 16 de diciembre de 2021
Temperatura de ingreso al laboratorio: 5,0°C

DATOS DE LA MUESTRA SUMINISTRADOS POR: CLIENTE

Nombre del Proyecto:	-	Tipo de envase:	Plástico	Nº de envases:	1	Preservante:	No
Fecha de muestreo:	-						
Rotulación de la muestra:	3						
Tipo de muestreo:	Puntual						
Tipo de muestra:	Agua						
Lugar de muestreo:	-						
Origen de la muestra:	-						
Responsable de muestreo:	Cliente						

PARÁMETRO	MÉTODO DE REFERENCIA/ MÉTODO INTERNO	UNIDAD	RESULTADO
^(b) Organoclorados	EPA 8270 D, Rev. 04, 2007 EPA 3510 C, Rev. 03, 1996	mg/L	< 0,005

SM: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Ed: Edición. PE: Procedimiento de Ensayo interno. N/A: No aplica.

Acreditaciones:

^(b) Parámetro subcontratado acreditado: ALS ECUADOR ALSECU S.A, según SAE LEN 05-005. Alcance específico de la acreditación: www.acreditacion.gob.ec
Mayor información respecto a los métodos, incertidumbres de medición y alcance de la acreditación de los parámetros se encuentra disponible en caso de ser solicitado.

Observaciones:

Organoclorados analizados y sus resultados: Aldrin <0,005 mg/l.

Nota:

Este informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo bajo las condiciones recibidas
La información completa de la medición de este ensayo se encuentra disponible para el cliente, cuando lo requiera
La incertidumbre de la medición de este ensayo se encuentra disponible para el cliente, cuando lo requiera
El laboratorio no se responsabiliza por la información proporcionada por el cliente que puedan afectar la validez de los resultados
En caso de que esta información sea solicitada por ley o disposiciones contractuales se notificará al cliente en forma previa
Prohibida la reproducción parcial de este informe

Firmado electrónicamente por:
JAIRO ENRIQUE
JIMPIKIT
CHUINTIAM

Revisado por: Jairo Jimpikit
RESPONSABLE TÉCNICO

Firmado electrónicamente por:
GRETA CAROLA
FIERRO NARANJO

Aprobado por: MSc. Carola Fierro
COORDINADORA DE LABORATORIO

Ilustración 13. Resultados del análisis de la muestra #3

Anexos de la calidad de agua de usos agrícola de acuerdo con Tulsma, Anexo I,

Libro VI

TABLA 6. Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Arsénico (total)	As	mg/l	0,1
Bario	Ba	mg/l	1,0
Berilio	Be	mg/l	0,1

le Ftalatos totales.

VI

ANEXO 1



PRESIDENCIA DE LA REPUBLICA

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Boro (total)	B	mg/l	1,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,01
Carbamatos totales	Concentración total de carbamatos	mg/l	0,1
Cianuro (total)	CN ⁻	mg/l	0,2
Cobalto	Co	mg/l	0,05
Cobre	Cu	mg/l	2,0
Cromo hexavalente	Cr ⁺⁶	mg/l	0,1
Fluor	F	mg/l	1,0
Hierro	Fe	mg/l	5,0
Litio	Li	mg/l	2,5
Materia flotante	visible		Ausencia
Manganeso	Mn	mg/l	0,2
Molibdeno	Mo	mg/l	0,01
Mercurio (total)	Hg	mg/l	0,001
Níquel	Ni	mg/l	0,2
Organofosforados (totales)	Concentración de organofosforados totales.	mg/l	0,1
Organoclorados (totales)	Concentración de organoclorados totales.	mg/l	0,2

Ilustración 14. Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola