



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

Doctorado en Ciencias Biológicas

Centro de Ciencias Básicas

TESIS

**ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE PESTICIDAS Y OTRAS  
ESTRATEGIAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DEL  
DESCORTEZADOR (*Dendroctonus spp.*) EN MÉXICO**

PRESENTA:

M. en C. Olga Lidia Rivera Dávila

Para obtener el grado de Doctora en Ciencias Biológicas

TUTORES:

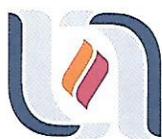
Dr. Roberto Rico Martínez

Dr. Guillermo Sánchez Martínez

INTEGRANTE DEL COMITÉ TUTORAL:

Dra. Elsa Marcela Ramírez López

Aguascalientes, Ags., marzo 2021.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS  
Departamento de Química

**M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez**  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

**PRESENTE**

Por medio del presente como TUTOR designado del estudiante **OLGA LIDIA RIVERA DÁVILA** con ID 187602 quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE PESTICIDAS Y OTRAS ESTRATEGIAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DEL DESCORTEZADOR (*Dendroctonus* spp.) EN MÉXICO**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

**"Se Lumen Proferre"**

**Aguascalientes, Ags., a 4 de marzo de 2021.**

**Dr. Roberto Rico Martínez**

**Tutor de tesis**

*El nombre completo que aparece en el Voto Aprobatorio debe coincidir con el que aparece en el documento pdf. No se puede abreviar, ni omitir nombres*

c.c.p.- Interesado

c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.

Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.

Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-07

Actualización: 01

Emisión: 17/05/19



**AGRICULTURA**

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

**inifap**

Instituto Nacional de Investigaciones  
Forestales, Agrícolas y Pecuarias

**M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez**  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

**PRESENTE**

Por medio del presente como TUTOR designado del estudiante **OLGA LIDIA RIVERA DÁVILA** con ID 187602 quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE PESTICIDAS Y OTRAS ESTRATEGIAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DEL DESCORTEZADOR (*Dendroctonus spp.*) EN MÉXICO**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags. a 04 de marzo de 2021.

**Dr. Guillermo Sánchez Martínez**  
Tutor de tesis

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

CARTA DE VOTO APROBATORIO  
INDIVIDUAL

**M. en C. Jorge Martín Alférez Chávez**  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como ASESORA designada del estudiante **OLGA LIDIA RIVERA DÁVILA** con ID 187602 quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE PESTICIDAS Y OTRAS ESTRATEGIAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DEL DESCORTEZADOR (*Dendroctonus spp.*) EN MÉXICO**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

**"Se Lumen Proferre"**

**Aguascalientes, Ags., a 04 de marzo de 2021.**



**Dra. Elsa Marcela Ramírez López**

**Asesora de tesis**

*El nombre completo que aparece en el Voto Aprobatorio debe coincidir con el que aparece en el documento pdf. No se puede abreviar, ni omitir nombres*

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**DICTAMEN DE LIBERACION ACADEMICA PARA INICIAR LOS TRAMITES DEL EXAMEN  
DE GRADO**



Fecha de dictaminación dd/mm/aa: 11-mar-21

**NOMBRE:** OLGA LIDIA RIVERA DÁVILA **ID** 187602

**PROGRAMA:** DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS **LGAC (del posgrado):** TOXICOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA AMBIENTAL

**TIPO DE TRABAJO:** (  ) Tesis (  ) Trabajo práctico

**TÍTULO:** ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE PESTICIDAS Y OTRAS ESTRATEGIAS UTILIZADAS PARA EL CONTROL DEL DESCORTEZADOR (Dendroctonus spp.) EN MÉXICO

**IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):**

ESTUDIO QUE PERMITE DETERMINAR ESTRATEGIAS PARA COMBATIR AL DESCORTEZADOR DENDROCTONUS SPP EN BOSQUES MEXICANOS

**INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:**

*Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:*

- SI El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
- SI La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
- SI Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
- SI Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
- SI Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
- SI El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
- SI Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
- NO Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

*El egresado cumple con lo siguiente:*

- SI Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
- SI Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
- SI Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
- SI Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
- SI Coincide con el título y objetivo registrado
- SI Tiene congruencia con cuerpos académicos
- SI Tiene el CVU del Conacyt actualizado
- SI Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

*En caso de Tesis por artículos científicos publicados:*

- SI Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
- SI El estudiante es el primer autor
- SI El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
- SI En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
- SI Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
- SI La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

**Sí**  **SI**  
**No**

**FIRMAS**

**Elaboró:**

\* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

DRA. ALMA LILIAN CORDERO BARRERA

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

DRA. ALMA LILIAN CORDERO BARRERA

\* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, designado por el Decano.

**Revisó:**

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

DRA. HAYDÉE MARTÍNEZ RUVALCABA

**Autorizó:**

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. JORGE MARTÍN ALFEREZ CHÁVEZ

**Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado**

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: .... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

**RV: CHEM75132R1 - Editor decision - accepted**

Roberto Rico Martinez <roberto.rico@edu.uaa.mx>

Mié 16/09/2020 11:15 AM

---

**De:** em.chemosphere.0.6e0248.ae0ef339@editorialmanager.com

<em.chemosphere.0.6e0248.ae0ef339@editorialmanager.com> en nombre de Chemosphere

<em@editorialmanager.com>

**Enviado:** martes, 15 de septiembre de 2020 11:34 p. m.

**Para:** rrico@correo.uaa.mx <rrico@correo.uaa.mx>

**Asunto:** CHEM75132R1 - Editor decision - accepted

Dear Dr. rico-martinez,

I am pleased to inform you that the manuscript "Ecotoxicity of pesticides and semiochemicals used for control and prevention of conifer bark beetle (*Dendroctonus* spp.) outbreaks" (Dr. roberto rico-martinez) has now been accepted by the editor for publication.

Your accepted manuscript will now be transferred to our production department and work will begin on creation of the proof. If we need any additional information to create the proof, we will let you know. If not, you will be contacted again in the next few days with a request to approve the proof and to complete a number of online forms that are required for publication.

Thank you for considering our journal for the publication of your research.

Kind regards,  
Professor Willie Peijnenburg  
Editor  
Chemosphere

-----

---

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/chemosphere/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.



Contents lists available at ScienceDirect

# Chemosphere

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chemosphere](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere)



## Ecotoxicity of pesticides and semiochemicals used for control and prevention of conifer bark beetle (*Dendroctonus* spp.) outbreaks



Olga Lidia Rivera-Dávila <sup>a</sup>, Guillermo Sánchez-Martínez <sup>b, \*\*</sup>, Roberto Rico-Martínez <sup>a, \*</sup>

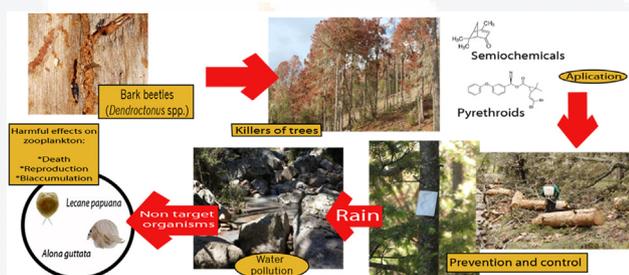
<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Química, Avenida Universidad 940, Aguascalientes, Aguascalientes, C.P. 20131, Mexico

<sup>b</sup> Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental Pabellón, INIFAP, Km. 32.5 Carretera Aguascalientes-Zacatecas, Pabellón de Arteaga, Ags. C.P. 20670, Mexico

### HIGHLIGHTS

- Application of pyrethroid pesticides in forests represents an environmental risk.
- Semiochemicals Verbenone and MCH were less toxic than pyrethroid pesticides tested.
- Cypermethrin was the less toxic of the pyrethroids tested.
- Pyrethroid pesticides are highly bioaccumulable in freshwater invertebrates.
- Semiochemicals are a friendly option to control bark beetle outbreaks in forests.

### GRAPHICAL ABSTRACT



### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 July 2020  
 Received in revised form 14 September 2020  
 Accepted 15 September 2020  
 Available online 17 September 2020

Handling Editor: Willie Peijnenburg

#### Keywords:

Pyrethroids  
 Verbenone  
 MCH  
 Bioaccumulation  
 Body burden  
 Freshwater invertebrates

### ABSTRACT

Application of pyrethroid pesticides and semiochemicals are two treatments used worldwide to control conifer bark beetles (*Dendroctonus* spp.); their residues can reach water reservoirs and water currents through run off and affect non-target organisms such as freshwater invertebrates. Therefore, we assessed the 48-h lethal toxicity, chronic toxicity (reproduction inhibition), and bioaccumulation of three pyrethroid pesticides (bifenthrin, cypermethrin, and deltamethrin) and two semiochemicals (verbenone and 3-methyl-2-cyclohexen-1-one) in two freshwater invertebrates: the cladoceran *Alona guttata* and the rotifer *Lecane papuana*. Bifenthrin was the most toxic of the five chemical compounds tested followed by deltamethrin and then cypermethrin, which was the least toxic pyrethroid for both species. Semiochemicals were far less toxic than pyrethroids and verbenone was most toxic than 3-methyl-2-cyclohexen-1-one for both species. For the rotifer *Lecane papuana*, the pyrethroid with the highest Bioconcentration Factor was bifenthrin, and for the semiochemicals it was 3-methyl-2-cyclohexen-1-one. For the cladoceran *Alona guttata*, the pyrethroid with the highest bioconcentration factor was cypermethrin and for the semiochemicals it was verbenone. The pyrethroid with highest body burdens both lethal and chronic was cypermethrin. Semiochemicals showed lethal and chronic body burdens 12-fold higher than pyrethroids and were therefore less toxic than pyrethroids. These results showed that the semiochemicals verbenone and 3-methyl-2-cyclohexen-1-one are a safe tool for the freshwater

Abbreviations: bifenthrin, BF; cypermethrin, CM; deltamethrin, DM; verbenone, VB; 3-methyl-2-cyclohexen-1-one, MCH.

\* Corresponding author.

\*\* Corresponding author.

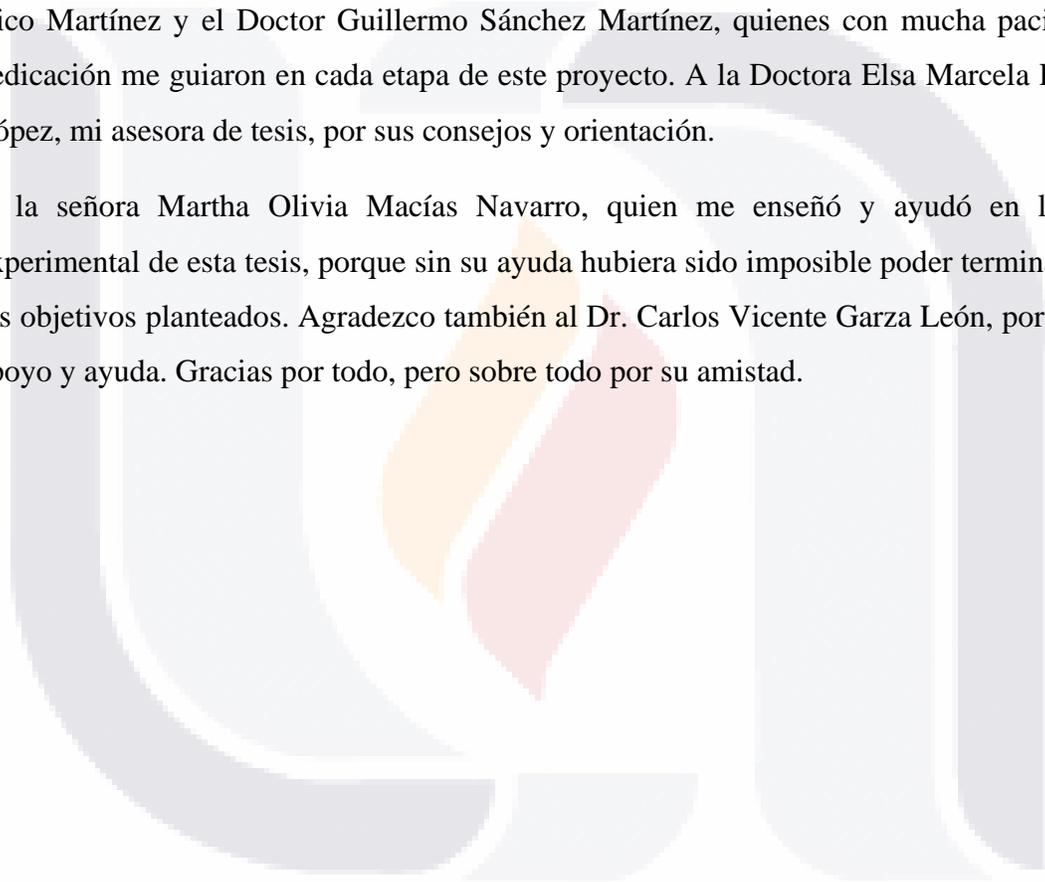
E-mail addresses: [sanchezm.guillermo@inifap.gob.mx](mailto:sanchezm.guillermo@inifap.gob.mx) (G. Sánchez-Martínez), [roberto.rico@edu.uaa.mx](mailto:roberto.rico@edu.uaa.mx) (R. Rico-Martínez).

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CONACYT (CVU 614280) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Quisiera también agradecer muy especialmente a mis Tutores de Tesis, el Doctor Roberto Rico Martínez y el Doctor Guillermo Sánchez Martínez, quienes con mucha paciencia y dedicación me guiaron en cada etapa de este proyecto. A la Doctora Elsa Marcela Ramírez López, mi asesora de tesis, por sus consejos y orientación.

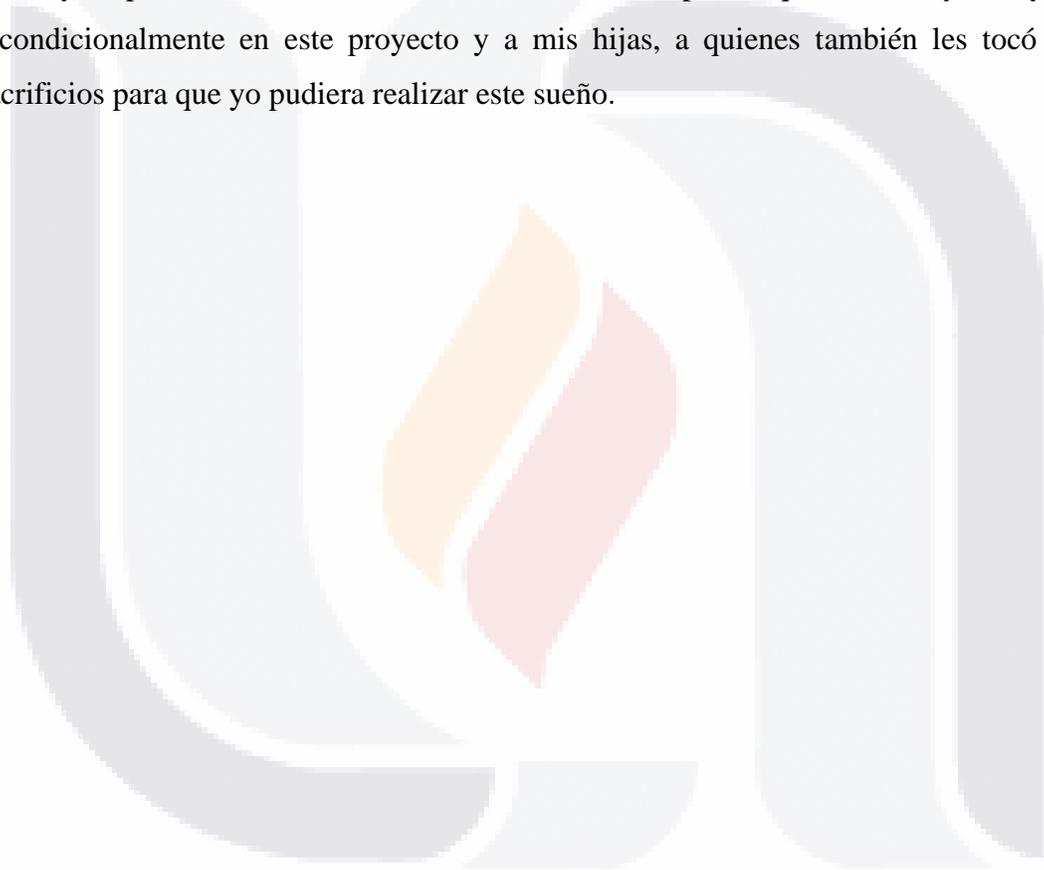
A la señora Martha Olivia Macías Navarro, quien me enseñó y ayudó en la etapa experimental de esta tesis, porque sin su ayuda hubiera sido imposible poder terminar todos los objetivos planteados. Agradezco también al Dr. Carlos Vicente Garza León, por todo su apoyo y ayuda. Gracias por todo, pero sobre todo por su amistad.



## DEDICATORIA

Dedico esta tesis especialmente a mi madre, quien me ha apoyado en todos mis proyectos de vida, quien a pesar de las circunstancias adversas que le han tocado vivir, siempre tiene una palabra de cariño y aliento para sus hijos.

Y muy especialmente dedico esta tesis a mi esposo, quien me ayudó y apoyó incondicionalmente en este proyecto y a mis hijas, a quienes también les tocó realizar sacrificios para que yo pudiera realizar este sueño.

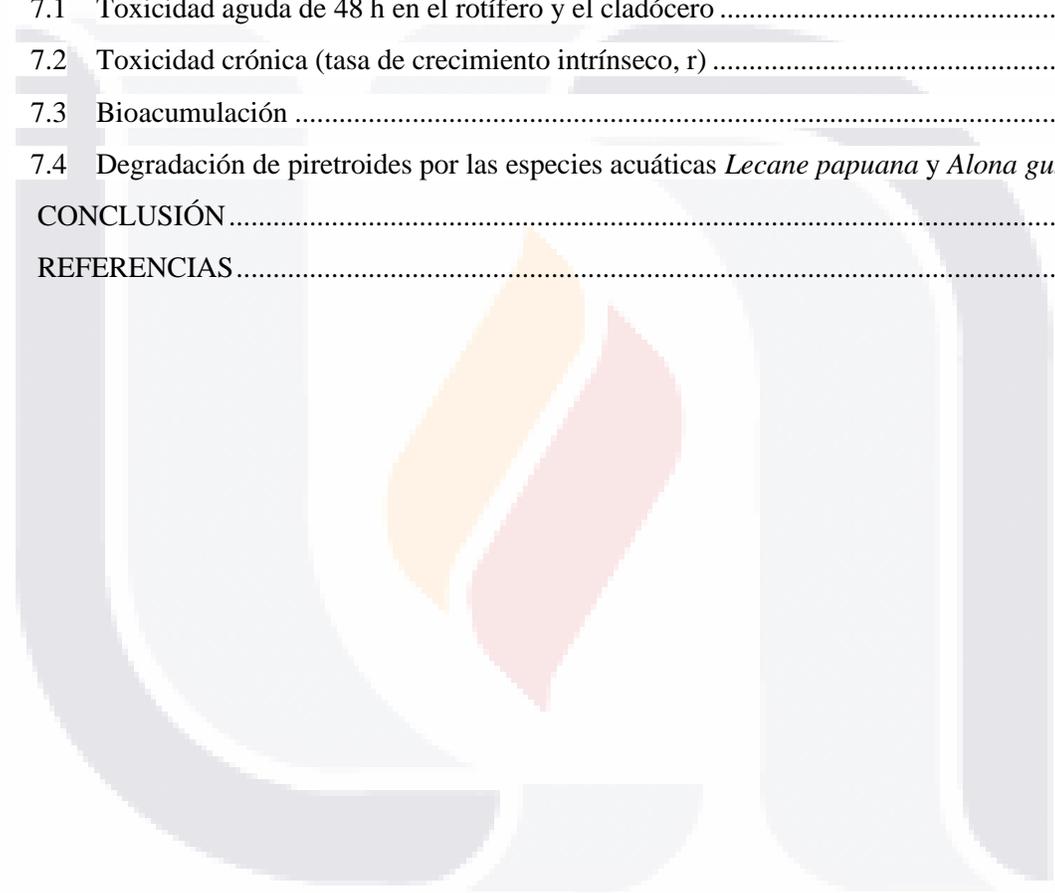


## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
ACRÓNIMOS Y NOMEMCLATURA.....	7
RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUCCIÓN .....	11
1.1 Insectos descortezadores .....	11
1.2 Problemas que causa el insecto descortezador ( <i>Dendroctonus</i> spp.).....	11
1.3 Uso de plaguicidas para el control del insecto descortezador ( <i>Dendroctonus</i> spp.).....	14
1.4 Piretroides .....	14
1.5 Semioquímicos.....	15
1.5.1 Feromona antiagregante 3-Metil-2-ciclohexen-1-ona (MCH).....	17
1.5.2 Feromona 4,6,6 Trimetilbiciclo [3.1.1] hept-3-en-2-ona (Verbenona).....	17
1.6 Uso de piretroides en el control del insecto descortezador ( <i>Dendroctonus</i> spp.).....	18
1.7 Estudios toxicológicos de insecticidas piretroides en organismos no blanco .....	20
1.7.1 Toxicidad de insecticidas piretroides en zooplancton.....	22
1.7.1.1 Bioacumulación.....	23
2. JUSTIFICACIÓN .....	25
3. HIPÓTESIS.....	26
4. OBJETIVO GENERAL.....	26
4.1 Objetivos específicos .....	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
5.1 Reactivos y químicos .....	27
5.1.1 Plaguicidas .....	27
5.1.2 Semioquímicos.....	27
5.1.3 Soluciones stock.....	27
5.2 Cuantificación de plaguicidas y semioquímicos .....	28
5.3 Cultivo de los organismos zooplanctónicos .....	29
5.4 Muestras de insectos descortezadores.....	30
5.5 Ensayo de toxicidad aguda (48 h) con cladóceros <i>Alona guttata</i> .....	30
5.6 Ensayo de toxicidad aguda (48 h) con el rotífero <i>Lecane papuana</i> .....	31

5.7 Prueba de toxicidad crónica (inhibición del crecimiento) en los organismos zooplanctónicos .....	31
5.8 Ensayos de toxicidad aguda (48 h) con el insecto descortezador <i>Dendroctonus mexicanus</i> .	32
5.8.1 Método de aplicación en la corteza .....	32
5.8.2 Método de aplicación tópica .....	33
5.9 Pruebas de supervivencia con el insecto descortezador <i>Dendroctonus mexicanus</i> .....	33
5.9.1 Probabilidad de supervivencia .....	33
5.9.2 Expectativa de vida media .....	34
5.10 Determinación de la especie de <i>Dendroctonus</i> .....	34
5.11 Pruebas de bioacumulación.....	35
5.11.1 Bioacumulación en <i>Alona guttata</i> .....	35
5.11.1.1 Extracción y cuantificación de piretroides y semioquímicos del cuerpo del cladóceros <i>Alona guttata</i> .....	36
5.11.2 Bioacumulación en <i>Lecane papuana</i> .....	36
5.11.3 Bioacumulación en el insecto descortezador ( <i>Dendroctonus mexicanus</i> ) .....	37
5.12 Toxicocinética .....	38
5.12.1 Tasa de depuración y tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) .....	38
5.13 Peso seco (dw) .....	39
5.13.1 Peso seco de <i>Alona guttata</i> .....	39
5.13.2 Peso seco de <i>Lecane papuana</i> .....	39
5.14 Persistencia del insecticida bifentrina en el medio ambiente.....	40
5.14.1 Muestras de suelo, agua y sedimento .....	40
5.15 Análisis estadístico.....	41
5.15.1 Dosis letales .....	41
5.15.2 Pruebas de supervivencia .....	41
6. RESULTADOS.....	43
6.1 Determinación de la especie de <i>Dendroctonus</i> .....	43
6.2 Validación de método de extracción y cuantificación .....	43
6.3 Ensayos de toxicidad letal (48 h) en los organismos acuáticos.....	46
6.4 Pruebas de toxicidad letal (24 h) en el insecto descortezador <i>Dendroctonus mexicanus</i> .....	51
6.5 Pruebas de supervivencia .....	55
6.5.1 Probabilidad de supervivencia .....	55
6.5.2 Expectativa de vida media .....	59

6.6 Bioacumulación .....	60
6.6.1 Bioacumulación en los organismos acuáticos.....	60
6.6.2 Bioacumulación de piretroides en el insecto descortezador <i>Dendroctonus mexicanus</i> .	64
6.7 Tasas de degradación de piretroides y semioquímicos .....	65
6.8 Parámetros toxicocinéticos.....	65
6.9 Residualidad de bifentrina en el medio ambiente .....	71
7. DISCUSIÓN .....	75
7.1 Toxicidad aguda de 48 h en el rotífero y el cladóceros .....	76
7.2 Toxicidad crónica (tasa de crecimiento intrínseco, r) .....	79
7.3 Bioacumulación .....	79
7.4 Degradación de piretroides por las especies acuáticas <i>Lecane papuana</i> y <i>Alona guttata</i> .	82
8. CONCLUSIÓN .....	90
9. REFERENCIAS.....	92



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Insecticidas autorizados y dosis a emplear en el combate de insectos descortezadores de pino.....19

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos en estudio. .... 28

Tabla 3. Análisis de regresión y curva de calibración para los insecticidas piretroides y semioquímicos estudiados..... 44

Tabla 4. Porcentajes de recuperación para los insecticidas piretroides y semioquímicos en medio EPA enriquecido en dos niveles (alto y bajo) de concentración para cada compuesto. .... 44

Tabla 5. Reproducibilidad (Intra-día) del método SPME-DI en la detección de plaguicidas piretroides en muestras de agua. .... 45

Tabla 6. Toxicidad letal (48 h) de los diferentes insecticidas y semioquímicos sobre las dos especies de zooplancton evaluadas..... 49

Tabla 7. Análisis de toxicidad de la tasa de crecimiento intrínseco (r) entre dos especies de zooplancton expuestas a piretroides y semioquímicos..... 50

Tabla 8. Comparaciones de las dosis letales (24 h) de los tres plaguicidas piretroides frente a *D. mexicanus* por los métodos de aplicación tópica y corteza..... 54

Tabla 9. Expectativa de vida media (días) de *D. mexicanus* comparando los tres diferentes insecticidas piretroides a cinco concentraciones diferentes..... 59

Tabla 10. Cargas corporales, BCF, LBB, CBB y ACR del rotífero *Lecane papuana* frente a los diferentes insecticidas y semioquímicos durante la prueba de toxicidad letal de 48 h. .... 62

Tabla 11. Cargas corporales, BCF, LBB, CBB y ACR del cladóceros *Alona guttata* frente a los diferentes insecticidas y semioquímicos evaluados a los 10 d de exposición a dos concentraciones diferentes (baja = CL<sub>50</sub>/5 y alta = CL<sub>50</sub>/2)..... 63

Tabla 12. Bioacumulación en el insecto descortezador *D. mexicanus* expuesto a dos concentraciones subletales de los tres plaguicidas piretroides..... 64

Tabla 13. Tasa de eliminación de los piretroides y semioquímicos evaluados en el rotífero *Lecane papuana* después de 48 h de exposición a dos concentraciones diferentes..... 67

Tabla 14. Tasa de eliminación de los piretroides y semioquímicos evaluados en el cladóceros *Alona guttata* después de 48 h de exposición a dos concentraciones diferentes. .... 68

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cromatograma (en modo SIM) de los tres plaguicidas piretroides, identificados y cuantificados por el método SPME-ID: a) Bifentrina (1:10), b) Cipermetrina y c) Deltametrina. ... 45

Figura 2. Cromatograma (en modo SIM) de semioquímicos. Los picos identificados son: MCH y verbenona. .... 46

Figura 3. Gráficos de la toxicidad aguda de 48 h con concentraciones reales obtenidas mediante el método de GC/MS-SPME de insecticidas piretroides en muestras de EPA frente *Alona guttata* y *Lecane papuana*. .... 47

Figura 4. Gráficos de la toxicidad aguda en medio EPA a) *Alona guttata* expuesta a verbenona y MCH, respectivamente y b) *Lecane papuana* expuesta a verbenona y MCH obtenidas mediante el método de GC/MS-SPME. .... 48

Figura 5. Gráfica del efecto del plaguicida bifentrina frente *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación tópica. .... 51

Figura 6. Gráfica del efecto del plaguicida deltametrina frente *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación tópica. .... 52

Figura 7. Gráfica del efecto del plaguicida cipermetrina frente *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación tópica. .... 52

Figura 8. Gráfica del efecto del plaguicida deltametrina frente a *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación en la corteza. .... 53

Figura 9. Gráfica del efecto del plaguicida bifentrina frente a *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación en la corteza. .... 53

Figura 10. Gráfica del efecto del plaguicida cipermetrina frente a *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación en la corteza. .... 54

Figura 11. Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesto al insecticida bifentrina en un ensayo de aplicación tópica. .... 56

Figura 12. Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesto al insecticida deltametrina en un ensayo de aplicación tópica. .... 56

Figura 13. Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida cipermetrina mediante un ensayo de aplicación tópica. .... 57

Figura 14. Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida bifentrina mediante un ensayo de aplicación en la corteza. .... 57

Figura 15. Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida deltametrina mediante un ensayo de aplicación en la corteza. .... 58

Figura 16. Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida cipermetrina mediante el ensayo de aplicación en la corteza. .... 58

Tabla 15. Parámetros toxicocinéticos de los insecticidas piretroides y semioquímicos en *Alona guttata* a los 10 d de exposición. .... 69

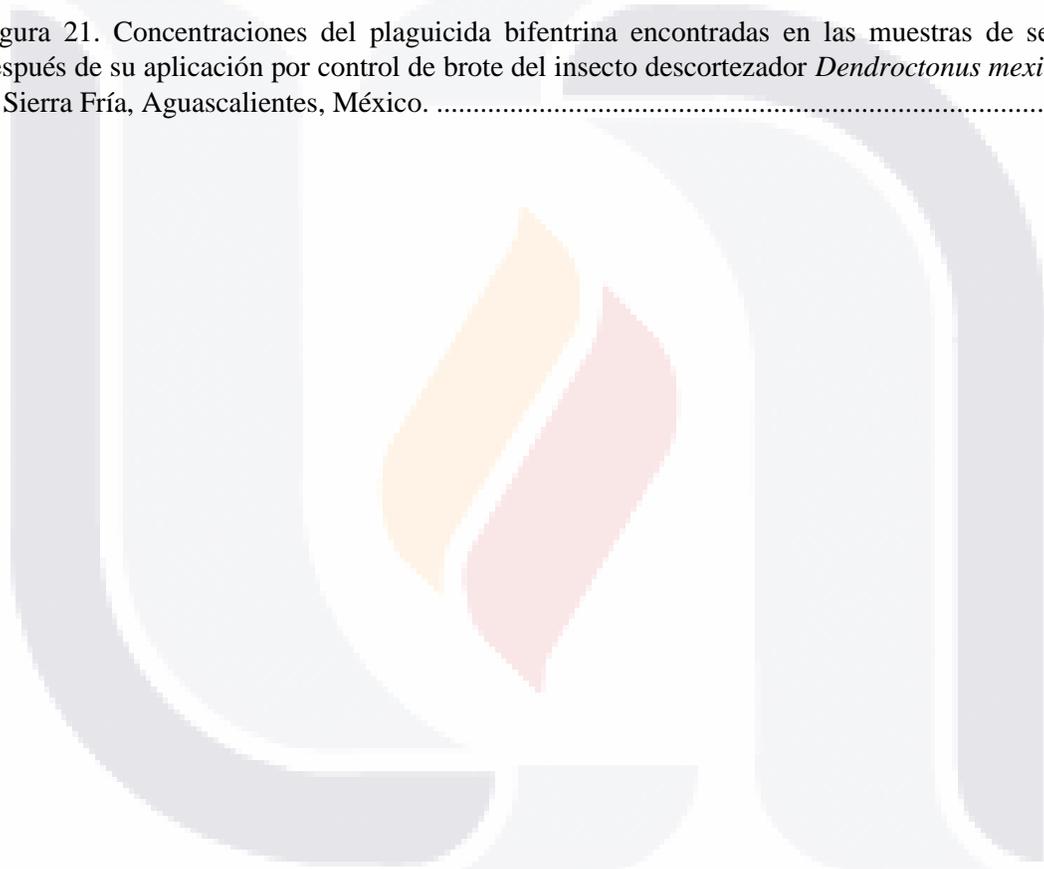
Figura 17. Bioacumulación ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dw) en *Alona guttata* durante la fase de absorción a concentración baja ( $\text{LC}_{50}/5$ ) de piretroides y semioquímicos..... 70

Figura 18. Bioacumulación ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dw) en *Alona guttata* durante la fase de absorción a concentración alta ( $\text{LC}_{50}/2$ ) de piretroides y semioquímicos..... 71

Figura 19. Concentraciones del plaguicida bifentrina encontradas en las muestras de suelo después de su aplicación por control de brote del insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* en la Sierra Fría, Aguascalientes, México..... 73

Figura 20. Concentraciones del plaguicida bifentrina encontradas en las muestras de agua después de su aplicación por control de brote del insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* en la Sierra Fría, Aguascalientes, México..... 73

Figura 21. Concentraciones del plaguicida bifentrina encontradas en las muestras de sedimento después de su aplicación por control de brote del insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* en la Sierra Fría, Aguascalientes, México. .... 74



## ACRÓNIMOS Y NOMENCLATURA

<b>ACR</b>	Relación Aguda a Crónica (siglas en inglés)
<b>ANOVA</b>	Análisis de Varianza
<b>BAF</b>	Factor de Bioacumulación (siglas en inglés)
<b>BCF</b>	Factor de Bioconcentración (siglas en inglés)
<b>BF</b>	Bifentrina
<b>CBB</b>	Carga Corporal Crónica (siglas en inglés)
<b>CICOPLAFEST</b>	Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas
<b>CL<sub>10</sub></b>	Concentración Letal 10
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentración Letal media
<b>CL<sub>99</sub></b>	Concentración Letal 99
<b>CM</b>	Cipermetrina
<b>COFEPRIS</b>	Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios
<b>CONAFOR</b>	Comisión Nacional Forestal
<b>CV%</b>	Coefficiente de variación
<b>DE</b>	Desviación Estándar
<b>DM</b>	Deltametrina
<b>DT50</b>	Tiempo de Degradación Media
<b>DVB</b>	Divinilbenceno
<b>dw</b>	Peso seco (siglas en inglés)
<b>g mol<sup>-1</sup></b>	Gramo por mol
<b>GC/MS</b>	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas
<b>i.a.</b>	Ingrediente Activo
<b>K<sub>1</sub></b>	Constante de consumo
<b>K<sub>2</sub></b>	Constante de eliminación
<b>LBB</b>	Carga Corporal Letal (siglas en inglés)
<b>LC95%</b>	Límites de Confianza al 95%
<b>LOD</b>	Límite de detección (siglas en inglés)
<b>LOEC</b>	Concentración más Baja Donde se Observa Efecto (siglas en inglés)
<b>LOQ</b>	Límite de Cuantificación (siglas en inglés)
<b>MCH</b>	3-metil-2-ciclohexen-1-ona

<b>mg L<sup>-1</sup></b>	Miligramo por Litro
<b>NOEC</b>	Concentración más Baja Donde No se Observa Efecto (siglas en inglés)
<b>PDMS</b>	Polidimetilsiloxano
<b>pg L<sup>-1</sup></b>	Picogramo por Litro
<b>SEMARNAT</b>	Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales
<b>SIM</b>	Monitoreo de Iones Seleccionados (siglas en inglés)
<b>SPME</b>	Microextracción en Fase Sólida (siglas en inglés)
<b>SPME-DI</b>	Microextracción en Fase Sólida por Inmersión Directa (siglas en inglés)
<b>t<sub>1/2</sub></b>	Tiempo de vida media
<b>VB</b>	Verbenona



## RESUMEN

Los pesticidas piretroides y semioquímicos son utilizados en los bosques de coníferas del hemisferio norte para controlar escarabajos descortezadores (*Dendroctonus* spp.); sus residuos pueden depositarse en el suelo del bosque y alcanzar los depósitos de agua a través de la escorrentía y afectar a organismos no diana, como los invertebrados de agua dulce y los que viven en suelo y sedimento. Por lo tanto, evalué la toxicidad letal y crónica (inhibición de la reproducción) y la bioacumulación de tres insecticidas piretroides (bifentrina, cipermetrina y deltametrina) y dos semioquímicos (verbenona y 3-metil-2-ciclohexen-1-ona) en dos invertebrados de agua dulce: el cladóceros *Alona guttata* y el rotífero *Lecane papuana*. Además, evalué la capacidad de bioacumulación en el insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* y la persistencia del insecticida bifentrina en ecosistema bosque (agua, suelo y sedimento) después de su aplicación por saneamiento. Para las especies acuáticas, bifentrina fue el compuesto más tóxico de los químicos probados ( $CL_{50}$  de  $20.15 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$  en *L. papuana* y  $6.13 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$  en *A. guttata*), y cipermetrina fue el piretroide con cargas corporales más elevadas, tanto letales como crónicas, pero fue el compuesto que menos se acumuló en el insecto. Los semioquímicos mostraron cargas corporales 12 veces más altas que los piretroides y, por lo tanto, fueron menos tóxicos. Por otro lado, la bifentrina mostró fuerte persistencia en las matrices de bosque después de 139 días de su aplicación, observándose que las concentraciones aumentaron con respecto al tiempo en las tres matrices evaluadas. Estos resultados mostraron que los semioquímicos son una herramienta segura para los invertebrados de agua dulce probados en comparación con los insecticidas piretroides. Cipermetrina fue el compuesto menos tóxico, con  $CL_{50}$  de hasta  $60.36 \text{ mg L}^{-1}$  en los organismos no diana (zooplancton) y el más tóxico en el organismo diana (*D. mexicanus*) ( $CL_{50}$  de  $5.037 \text{ mg L}^{-1}$ ) de los piretroides probados y, por lo tanto, podría considerarse un buen candidato para controlar los brotes del escarabajo de la corteza de las coníferas.

Palabras clave: Semioquímicos, Piretroides, MCH, Verbenona, zooplancton.

## ABSTRACT

Pyrethroid pesticides and semiochemicals are used throughout the world to control conifer bark beetles (*Dendroctonus* spp.); its residues can be deposited in the soil forest and reach water reservoirs through runoff and affect non-target organisms such as freshwater invertebrates and those that live in soil and sediment. Therefore, I evaluated the lethal and chronic toxicity (inhibition of reproduction) and the bioaccumulation of three pyrethroid pesticides (bifenthrin, cypermethrin and deltamethrin) and two semiochemicals (verbenone and 3-methyl-2-cyclohexen-1-one) in two freshwater invertebrates: the cladoceran *Alona guttata* and the rotifer *Lecane papuana*. In addition, I evaluated the bioaccumulation capacity in the bark beetle *Dendroctonus mexicanus* and the persistence of the insecticide bifenthrin in the forest ecosystem (water, soil, and sediment) after its application by sanitation. For aquatic species, bifenthrin was the most toxic compound of the tested chemicals ( $LC_{50}$   $20.15 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup> on *L. papuana* and  $6.13 \times 10^{-3}$  mg L<sup>-1</sup> on *A. guttata*), and cypermethrin was the pyrethroid with the highest body burdens, both lethal and chronic, but it was the compound that accumulated the least in the insect. Semiochemicals showed body burdens 12-fold higher than pyrethroids, and therefore were less toxic. On the other hand, bifenthrin showed strong persistence in forest matrices after 139 days of its application, observing that the concentrations increased with respect to time in the three matrices evaluated. These results showed that semiochemicals are a safe tool compared to pyrethroid insecticides for freshwater invertebrates tested here. Cypermethrin was the least toxic in non-target organisms (zooplankton) ( $LC_{50}$  60.36 mg L<sup>-1</sup>) and the most toxic in target organism (*D. mexicanus*) ( $LC_{50}$  5.037 mg L<sup>-1</sup>) of the pyrethroids tested and could therefore be considered a good candidate for controlling bark beetle outbreaks of conifers.

Keywords: Semiochemicals, Pyrethroids, MCH, Verbenone, zooplankton.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Insectos descortezadores

Los escarabajos descortezadores son coleópteros fitófagos que pertenecen a la familia Curculionidae, de tamaño muy pequeño (0.1 a 0.8 cm), son endófitos y cavan galerías por debajo de la corteza de los árboles para alimentarse del floema. Existen dos grandes grupos: los pertenecientes a la subfamilia Scolytinae que se alimentan directamente del floema de los árboles y los escarabajos conocidos como ambrosiales, dentro de la subfamilia Platypodinae, que además de perforar la corteza, cultivan hongos ambrosiales y no se alimentan directamente del árbol hospedero, sino de los hongos que cultivan en su interior (Farrel *et al.*, 2001). En México, el número de especies de escarabajos descortezadores que causan mortalidad de las coníferas, se reduce a menos de 20, la mayoría pertenecen al género *Dendroctonus* y algunas especies al género *Ips* (Cibrián-Tovar *et al.*, 1995, Salinas-Moreno *et al.*, 2004, Fonseca *et al.*, 2008).

### 1.2 Problemas que causan los insectos descortezadores (*Dendroctonus* spp)

Los escarabajos descortezadores del género *Dendroctonus* Erichson, 1836 (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (Dendro = árbol, tonus = destructor), son un grupo que contiene la mayoría de los principales insectos descortezados que matan coníferas en todo el mundo; la capacidad de varios miembros de este género para matar árboles, hacen que estos insectos sean de gran importancia económica y ecológica (Liu *et al.*, 2013; Six y Bracewell, 2015). En las recientes décadas, miles de millones de coníferas a través de millones de hectáreas han muerto por el ataque de estos insectos, y sus brotes han sido considerados los más grandes y severos registrados en la historia (Fettig *et al.*, 2013). Los escarabajos de la corteza del género *Dendroctonus* se encuentran entre los factores bióticos más destructivos para los bosques de coníferas en todo el mundo (Giunta *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2020), éstos pueden atacar y matar de miles a millones de árboles de coníferas durante un brote, causando enormes pérdidas económicas en los bosques templados de América del Norte y Central (Victor y Zuñiga, 2016).

Muchas especies del género *Dendroctonus* tienen la capacidad de matar coníferas sanas a través del ataque masivo sobre el árbol huésped (Reeve *et al.*, 2012); por ello, se consideran los factores biológicos naturales más destructivos en todo el mundo para los bosques de coníferas (Pinaceae) (Stock y Guenther, 1979; Miller *et al.*, 1987; Liu *et al.*, 2008). En los años 1999 a 2003, una invasión sin precedentes en toda la región de escarabajos descortezadores destruyó más de 90,000 hectáreas de pinares en América central (Billings *et al.*, 2004). Sólo en Colorado, USA, durante los años 1996–2011, una infestación por *D. ponderosae* afectó 211,700 ha de bosque (Meddens y Hicke, 2014). Durante 2003-2004, un brote de dicha especie afectó 7 millones de hectáreas de bosque en Canadá (McFarlane *et al.*, 2006).

De 20 especies descritas del género *Dendroctonus* a nivel mundial, 18 se encuentran en América y dos en Europa y Asia (Armendáriz-Toledano y Zúñiga, 2017). México posee una gran diversidad ecológica en las asociaciones *Dendroctonus-Pinus*. La coexistencia geográfica de 12 especies de *Dendroctonus* sugiere una mayor vulnerabilidad o amenaza de mortalidad de árboles en relación con otras áreas. La región más afectada por este grupo de insectos durante los últimos cien años es el Cinturón Volcánico Transversal, seguido por la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre del Sur (Salinas-Moreno *et al.*, 2010).

Una de las especies más importantes es *Dendroctonus mexicanus* Hopkins, que se distribuye en los bosques de pino de Norte América (Monser *et al.*, 2005), y se extiende hasta El Salvador (Landaverde-Toruño, 2001) y Nicaragua (Maes, 1992). Se le ha consignado también en Honduras y Belice (Wood, 1982; Monser *et al.*, 2005; Armendáriz-Toledano *et al.*, 2014). *Dendroctonus mexicanus* es dependiente de la temperatura por lo que se estima que presenta de dos a cinco generaciones por año; es por ello que, se considera uno de los taxones con mayor agresividad en sus ataques (Cibrián-Tovar *et al.*, 1995; Salinas-Moreno *et al.*, 2004; Trãn *et al.*, 2007; Armendáriz-Toledano *et al.*, 2014). Las especies agresivas de *Dendroctonus* requieren obligadamente matar a sus hospederos para poder alimentarse y reproducirse, de otra manera, son incapaces de sobrevivir, por lo que su principal estrategia de colonización del árbol es el “ataque en masa” (Byers, 1995; Six y Bracewell, 2015) en el cual miles de insectos atacan al hospedero en un tiempo relativamente corto, lo cual permite vencer sus defensas (Sánchez-Martínez y Wagner, 2009). En brotes epidémicos *D.*

*mexicanus* puede alcanzar una densidad de entre 85 a 170 ataques por metro cuadrado (Vité y Baader, 1990). Además, en la actualidad, debido al cambio climático, los insectos nativos han expandido su rango de hospederos favoreciendo la aparición de nuevos y más potentes brotes (Erbilgin, 2019).

Los insectos descortezadores están considerados como la plaga forestal más dañina para los bosques de pino en México, y debido a que en el país el grueso de la producción maderera proviene de los aprovechamientos de bosques de pino, los convierte en una problemática de índole económica y por lo tanto su manejo es importante para la economía nacional. De las 44,869 ha afectadas por plagas forestales en los últimos años, el 48% (6,374 ha) corresponde a la infestación por descortezador, el muérdago con 30% en segundo lugar y con una menor representatividad los insectos defoliadores con un 17% (SEMARNAT, 2018).

Según datos de la SEMARNAT (2018), a partir del año 2006 es cuando se tiene un alza significativa en la superficie afectada por estos insectos con un aproximado de 37,000 ha, no obstante, para el año 2012 se tiene registrada una infestación de más de 120,000 ha de superficie forestal, un dato sin precedente hasta ese momento el cual deja en evidencia la importancia de los insectos descortezadores para el ecosistema forestal y para la industria de la madera.

La sierra Fría, localizada en la parte meridional de la sierra Madre Occidental, declarada Área Natural Protegida por el gobierno del estado de Aguascalientes en 1994, es una de las regiones de nuestro país cubierta por bosques templados que está dominada por bosques de encino y pino-encino (Chapa *et al.*, 2008). Sánchez (2004) realizó un diagnóstico fitosanitario en esta región y señaló que existe *D. mexicanus*, el cual ataca a *Pinus leiophylla* y *Pinus teocote*, las dos especies de pino dominantes en dicha área. Durante el año 2001, la Sierra Fría de Aguascalientes sufrió fuertes infestaciones de escarabajos descortezadores, principalmente por *D. mexicanus*, por dicha razón hubo una mortalidad alta de estas dos especies de pino, por lo que se tuvieron que derribar alrededor de 10,000 árboles infestados, como parte de un programa de saneamiento (Asociación Sierra Fría, 2002).

### **1.3 Uso de plaguicidas para el control de insectos descortezadores (*Dendroctonus* spp.)**

Los plaguicidas se consideran una herramienta económica y eficaz para el manejo de plagas (Sharifzadeh *et al.*, 2018). En 2006 se utilizaron más de 433 ton de plaguicidas en todo el mundo (Grube *et al.*, 2011). Con el uso de plaguicidas, se ha logrado reducir o eliminar las pérdidas por desempeño y mantener una alta calidad del producto (Damalas y Eleftherohorinos, 2011). Sin embargo, se han presentado algunos inconvenientes: a) son tóxicos no solo para las especies diana, sino también para las especies no diana, b) algunos insectos han demostrado capacidad para desarrollar resistencia a ellos, c) debido a la alta persistencia de los plaguicidas, algunos de ellos han sido concentrados y/o pasados pasivamente a través de cadenas tróficas (Corcellas *et al.*, 2015; Calderón-Garcidueñas *et al.*, 2018). Además, se ha originado un aumento de la mortalidad y la morbilidad de los seres humanos debido a la exposición a los plaguicidas, lo cual se ha observado especialmente en los países en desarrollo (Wilson, 2001).

### **1.4 Piretroides**

Los piretroides son los insecticidas más utilizados en todo el mundo, ya que se asocian tradicionalmente con una baja toxicidad para los mamíferos (WHO, 2005). Este tipo de plaguicidas controlan una amplia gama de insectos a tasas mucho más bajas que los insecticidas usados tradicionalmente y, al ser biodegradables, teóricamente no dejan residuos que puedan acumularse en los sistemas biológicos (Ensley, 2018). Además de eso, su movimiento desde el sitio de aplicación está limitado en el aire debido a su baja volatilidad, y en el suelo debido a su baja polaridad (Zhu *et al.*, 2020). Con la aparición de los piretroides se sustituyó el uso de los insecticidas existentes (organoclorados, organofosforados y carbamatos) debido a que estos últimos presentan persistencia indebida, alta toxicidad para los mamíferos y desarrollo de resistencia por parte de las plagas.

Los piretroides representan un 25% de los pesticidas usados en la actualidad, son altamente hidrófobos, fotosensibles y fácilmente hidrolizables, con tiempos de degradación inferiores a 60 días; no son persistentes y los mamíferos pueden metabolizarlos; sin embargo, se ha

demostrado que los piretroides se bioacumulan en mamíferos marinos y humanos (Aznar-Aleman y Eljarrat, 2020b).

Los piretroides generalmente se dividen en dos grupos designados como tipos I y II. Según la estructura química, los piretroides de tipo I no tienen un grupo  $\alpha$ -ciano en su resto de alcohol, mientras que los piretroides de tipo II tienen el grupo  $\alpha$ -ciano en su fracción de fenoxibencilo (Soderlund, 2012; Starr *et al.*, 2012). En general, el modo de acción de los piretroides en los organismos expuestos implica la unión a los canales de sodio con voltaje que provocan la apertura prolongada y la interrupción del canal (Soderlund, 2012). La apertura prolongada del canal deteriora la actividad motora (Wolansky *et al.*, 2009), previene la repolarización neuronal lo que provoca una activación continua del potencial de acción que conduce a la parálisis y/o muerte del organismo (Soderlund *et al.*, 2010). Por sus características, los insecticidas piretroides han sido analizados y registrados, y debido a sus características son una buena alternativa para el control y manejo del escarabajo descortezador (Gibson, 2004; SEMARNAT, 2018).

## 1.5 Semioquímicos

Los insectos usan información química de su entorno en todas las etapas de desarrollo, para ubicar los sitios de alimentación, oviposición e hibernación, para unirse a sus congéneres y parejas sexuales, y para evitar situaciones peligrosas o hábitats y hospedantes inadecuados (Agelopoulos *et al.*, 1999). Esta información se transmite a través de semioquímicos, las cuales son sustancias químicas que median las interacciones entre organismos (Law y Regnier, 1971), dentro de las mismas especies (feromonas) o de diferentes especies (aleloquímicos) (Nordlund y Lewis, 1976). Un semioquímico puede influir interacciones que implican una serie de organismos de varios niveles tróficos. Los escarabajos de la corteza, por ejemplo, realizan agregación en los árboles hospederos usando semioquímicos producidos por escarabajos conspicuos, cuya atracción está sinergizada por volátiles liberados del árbol mismo (Byers, 1995). Muchas especies de escarabajos de la corteza (Scolytinae) liberan una feromona de antiagregación una vez que un árbol se coloniza con éxito, actuando como un interruptor y disuadiendo nuevos ataques, lo que reduce la competencia entre las especies (Wood, 1982). Los mismos compuestos pueden atraer a otros

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

insectos que utilizan el árbol para alimentarse o para oviposición, inhiben el desarrollo de hongos o bacterias y también pueden tener un papel en las interacciones planta/planta (Nordlund y Lewis, 1976; Dicke y Sabelis, 1988). El estudio de los semioquímicos y las interacciones que ellos median, es parte de la ecología química y contribuye para una comprensión del comportamiento, desarrollo y evolución de organismos (Silverstein, 1990).

Los semioquímicos, que participan en interacciones multitróficas, también se pueden utilizar para influir en el comportamiento de los enemigos naturales de las plagas. Algunas o todas estas actividades se pueden utilizar como componentes de estrategias integradas de control de plagas (Agelopoulos *et al.*, 1999). El uso exitoso de semioquímicos para el control de plagas es una alternativa al uso de tóxicos de amplio espectro (Silverstein, 1990).

Los semioquímicos que tienen la capacidad de atraer o repeler insectos, o que mejoran o inhiben la acción de otros químicos, tienen el potencial de ser utilizados en el control directo de plagas mediante el trapeo masivo, la interrupción del apareamiento, o la disuación a las plagas de los alimentos y sitios de oviposición (Silverstein, 1990). Los semioquímicos que se han utilizado con mayor éxito en el control de plagas son las feromonas sexuales en lepidópteros y feromonas de agregación en Coleópteros (Ridgway *et al.*, 1990; Howse *et al.*, 1998). Aunque las coníferas han desarrollado mecanismos de defensa contra una variedad de plagas; los escarabajos de la corteza pueden superar estas defensas utilizando estrategias que incluyen feromonas de agregación y antiagregación (Franceschi *et al.*, 2005). Estas feromonas de antiagregación se pueden utilizar para proteger a los árboles del ataque de insectos plaga (Seybold *et al.*, 2018).

Existen muchos sistemas comercialmente desarrollados para el uso de feromonas sexuales, ya sea en sistemas de monitoreo o en formulaciones de liberación lenta para interrumpir la ubicación normal del compañero. Para el control de las plagas forestales, las feromonas de agregación de los escarabajos de la corteza son ampliamente utilizadas para su captura en trampas (Agelopoulos *et al.*, 1999).

### **1.5.1 Feromona antiagregante 3-Metil-2-ciclohexen-1-ona (MCH)**

La feromona 3-Metil-2-ciclohexen-1-ona, conocida comúnmente como MCH, fue identificada como una feromona liberada por *D. pseudotsugae* macho para evitar que otros escarabajos de la misma especie ataquen árboles ya colonizados y así evitar la competencia (Kinzer *et al.*, 1971). Graham y Storer (2011), observaron una interrupción exitosa de la respuesta a seudenol por MCH, lo que demuestra el potencial de MCH para proteger árboles individuales y para el manejo de escarabajos descortezadores a nivel de planta. La aplicación aérea de esta feromona de antiagregación puede prevenir eficazmente la infestación de árboles (McGregor *et al.* 1984) y su aplicación como estrategia ha reducido significativamente las infestaciones de por *D. pseudotsugae* en árboles vivos en rodales de alto riesgo (Ross y Daterman, 1995), por lo que es ampliamente utilizada para prevenir los ataques del escarabajo del abeto de Douglas en América del Norte (Hansen *et al.*, 2019).

En el caso de México, la Norma Oficial Mexicana NOM-019-SEMARNAT-2017 establece que para *Dendroctonus pseudotsugae* se deben colocar dispositivos liberadores de feromonas o semioquímicos antiagregantes a base de la feromona 3-metil-2-ciclohexeno-1-ona (MCH); ésta se aplica en forma terrestre o aérea. La aplicación terrestre se realiza en presentación de cápsula burbuja, las cuales se engrapan sobre el fuste de los árboles en pie de cualquier especie, árboles caídos, tocones o arbustos. La presentación de micro-hojuelas se aplica por vía aérea (SEMARNAT, 2018).

### **1.5.2 Feromona 4,6,6 Trimetilbicyclo [3.1.1] hept-3-en-2-ona (Verbenona)**

La verbenona (4,6,6 Trimetilbicyclo [3.1.1] hept-3-en-2-ona) es un químico que se produce de forma natural y que está involucrado en la transmisión de mensajes dentro de las especies o entre ellas. La verbenona se produce de forma natural a través de la autooxidación del  $\alpha$ -pineno, un químico que se encuentra comúnmente en la resina de muchas especies de pino (Hunt *et al.*, 1989). Algunas feromonas son atrayentes y pueden usarse para atrapar especies de plagas. Otros, como la verbenona, tienen el efecto opuesto, causando que el organismo sea repelido o dispersado. Las principales características de las feromonas son que son efectivas en concentraciones muy bajas y son específicas para una especie individual o

grupos de especies relacionadas (Vite y Baader, 1990). La verbenona puede interrumpir las respuestas de varias especies de scolytinae a sus compuestos atractivos (Dyer y Hall, 2019). La verbenona reduce significativamente los ataques del escarabajo del pino de montaña, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins, en árboles individuales y grupos de árboles (Huber y Borden, 2001). En los EE. UU. Esta feromona de antiagregación, ha sido aprobada y registrada por EPA (Agencia de Protección del Ambiente en los EE. UU.) como un tratamiento preventivo de los ataques de varias especies de *Dendroctonus* (Fettig, 2017). En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-019-SEMARNAT-2017 la recomienda, para prevenir infestaciones por descortezadores del género *Dendroctonus* como *D. mexicanus* y *D. frontalis*. La aplicación de esta feromona debe hacerse de una a dos semanas antes del inicio del periodo de vuelo del descortezador (SEMARNAT, 2018).

Ambos semioquímicos mencionados en este apartado se implementan en entornos forestales en áreas grandes y pequeñas utilizando estrategias antiagregación y push-pull (empuje-atracción) para proteger los árboles (Gillette *et al.*, 2009; Foote *et al.*, 2020). Siendo los semioquímicos compuestos que se volatilizan al ambiente en cantidades micrométricas por día, y que tienen poco efecto en organismos no asociados con insectos descortezadores, para ser seguros para el ambiente; sin embargo se desconoce su posible efecto en especies no objetivo.

### **1.6 Uso de piretroides en el control del insecto descortezador (*Dendroctonus* spp.)**

Los piretroides bifentrina y permetrina se usan comúnmente para proteger a los árboles del ataque de los escarabajos de la corteza en los EE. UU. Varias formulaciones están disponibles y son eficaces si se aplican correctamente. La actividad residual varía con el ingrediente activo, las especies arbóreas, la ubicación geográfica y las condiciones climáticas asociadas (Fettig *et al.*, 2013). Los insecticidas piretroides han sido recientemente probados y registrados, y ahora proporcionan una alternativa para el control del insecto descortezador en Norteamérica. (Gibson, 2004).

Actualmente en México, el uso de insecticidas en el control y manejo del insecto descortezador está regulado en la Norma Oficial Mexicana NOM-019-SEMARNAT-2017 (SEMARNAT, 2018). El combate y control de descortezadores se realiza mediante la remoción y destrucción de los insectos a través de los métodos físico-mecánicos y químicos señalados en dicha Norma. Los métodos consisten en el derribo y troceo del arbolado afectado por insectos descortezadores y posterior aplicación de productos plaguicidas.

En México, la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) recomienda aplicar insecticidas para combatir las infestaciones de insectos primarios de los géneros *Dendroctonus* e *Ips* pero sólo aquellos que estén autorizados por la Secretaría a través de COFEPRIS y CICOPLAFEST, éstos son los formulados con los piretroides deltametrina y bifentrina (Cibrián-Tovar *et al*, 2015). La Tabla 1 muestra ejemplos de productos comerciales, las marcas y las dosis recomendadas.

**Tabla 1.** Insecticidas autorizados y dosis a emplear en el combate de insectos descortezadores de pino (CONAFOR, 2015).

<b>PRODUCTO</b> Nombre técnico	<b>INGREDIENTE</b> <b>ACTIVO</b> (g L <sup>-1</sup> )	<b>TOXICIDAD</b>
<b>Bifentrina</b> Veltar 100 CE (100 g de i.a./L)	0.5	<b>Verde</b>
<b>Deltametrina</b> DIBROL 2.5 CE	1.25	<b>Azul</b>
<b>Deltametrina</b> DECIS FORTE CE (100 g de i.a./L)	2.0	<b>Amarillo</b>
<b>Deltametrina</b> K-OTHRINE PH (250 g de i.a./Kg)	0.25	<b>Azul</b>

La bifentrina es un piretroide sintético tipo I con un amplio espectro de actividad insecticida y acaricida utilizada para controlar muchas plagas de insectos (Sadowska-Woda *et al.*, 2010). Hoy en día, la bifentrina es uno de los piretroides más utilizados para proteger los pinos en

EE. UU. (DeGomez *et al.*, 2006, Fettig *et al.*, 2013) y México (CONAFOR, 2015). La cipermetrina es un piretroide sintético tipo II extremadamente efectivo contra un amplio espectro de insectos, es relativamente seguro para mamíferos y aves, aunque parece ser extremadamente tóxico para peces y organismos acuáticos (Jones, 1995). Los datos sobre mortalidad/morbilidad para la cipermetrina son adecuados para proteger los árboles de los escarabajos descortezadores (Skrzecz *et al.*, 2015).

La deltametrina es otro piretroide de tipo II con potente actividad insecticida, pero es uno de los piretroides más tóxicos para los vertebrados (Pham *et al.*, 1984). La deltametrina ha demostrado buenos resultados para controlar los escarabajos de la corteza (Stone y Simpson, 1987).

### **1.7 Estudios toxicológicos de insecticidas piretroides en organismos no diana**

Los insecticidas piretroides, incluso si se usan de acuerdo con las buenas prácticas agrícolas, podrían ingresar a las aguas superficiales a través de varias rutas, como rociadores, escorrentías y sedimentación en el fondo de los reservorios (Katagi, 2011).

Los residuos de algunos compuestos piretroides se han encontrado en agua subterránea o superficial (Carlson y Wetzstein, 1993). Estudios muestran que la escorrentía superficial facilita el transporte de los insecticidas piretroides a las corrientes superficiales, probablemente por el movimiento de sedimentos. Gan *et al.* (2005) observaron una persistencia prolongada del piretroide bifentrina en el sedimento acuoso en condiciones tanto aeróbicas como anaeróbicas, y la vida media varió de 8 a 17 meses a 20 °C. La larga persistencia probablemente fue causada por la fuerte adsorción del pesticida a la fase sólida.

Bennett *et al.* (2005) estudiaron la partición y retención de dos insecticidas piretroides, bifentrina y lambda-cihalotrina, en el agua de la zanja. Observaron que tres horas después del inicio de la escorrentía, las concentraciones de bifentrina y lambda-cihalotrina en el agua de entrada variaron de 666 y 374  $\mu\text{g L}^{-1}$  a 7.24 y 5.23  $\mu\text{L}^{-1}$  respectivamente, a 200 m corriente abajo. También observaron que las concentraciones de bifentrina y lambda-cihalotrina en el agua de la zanja se redujeron al 0.1% del valor inicial dentro de los 280 m. Después realizar

los cálculos de balance de masas, determinaron que la absorción y/o adsorción en las plantas y en los sedimentos de la zanja fue responsable de la rápida disipación de estos piretroides en el agua.

Domagalski *et al.* (2010) evaluaron las concentraciones y la toxicidad en el sedimento del lecho del valle de San Joaquín, California, una de las regiones agrícolas más productivas de los Estados Unidos donde la escorrentía cargada de sedimentos transporta insecticidas piretroides a lo largo de la temporada de crecimiento. Los sedimentos del lecho occidental del valle eran frecuentemente tóxicos para el anfípodo *Hyalella azteca*, con una mortalidad del 100% en algunos lugares, la mayor parte de la toxicidad fue atribuible a bifentrina y cihalotrina.

Los piretroides son altamente tóxicos para los peces; aproximadamente el 40 por ciento de los valores de  $CL_{50}$  para peces son menos de 1.0 ppb (Kallaji, 1990). La cipermetrina tiene  $CL_{50}$  de 1.2, 0.9 y 0.5  $\text{pg L}^{-1}$  en trucha marrón, carpa y trucha arcoiris, respectivamente (Stephenson, 1982). En estudios que usan pececillos cabeza gorda, se determinó que  $CL_{50}$  era 1.1  $\text{pg L}^{-1}$  para fenvalerato (Bradbury y Coats, 1982) y 16  $\text{pg L}^{-1}$  para permetrina (Holcombe *et al.*, 1982). Los síntomas de la intoxicación por fenvalerato en peces incluyen desorientación, natación cerca de la superficie del agua, hiperactividad, convulsiones, pérdida de flotabilidad, aumento de la frecuencia de la tos, aumento de las secreciones de mucosidad, destello de las branquias, sacudidas de la cabeza y apatía, que finalizan con la muerte (Richterová *et al.*, 2014). La deltametrina y la cipermetrina tienen  $CL_{50}$  de 96 h de aproximadamente 0.01  $\text{pg L}^{-1}$  en langosta (*Homarus americanus*) y camarones (*Crangon septemspinosa*) (Zitko *et al.*, 1979; McLease *et al.*, 1980).

Se ha demostrado que las aplicaciones de piretroides en el suelo disminuyen el número de ácaros depredadores y en altas tasas de aplicación, los piretroides causan una reducción significativa en las poblaciones de lombrices de tierra (Lucowicz-Ratajczak y Krechniak, 1992).

### 1.7.1 Toxicidad de insecticidas piretroides en zooplancton

El uso extensivo de nuevos productos químicos en el mercado exige un conocimiento profundo de la generación de residuos y su destino, dado que la comprensión del riesgo ambiental es crucial para la salud humana y ambiental. El riesgo ambiental abarca la cantidad de sustancias químicas liberadas en el medio ambiente, su destino, transporte, toxicidad y acumulación (Arnot y Gobas, 2006). Los plaguicidas piretroides y semioquímicos podrían llegar a los depósitos de agua cuando se aplican para el control del escarabajo de la corteza y podrían afectar el zooplancton nativo. Los rotíferos y los cladóceros son especies importantes en los ecosistemas acuáticos (Saeng-aroon y Sanoamuang, 2002). Ambos grupos tienen distribución mundial (Segers, 2007). Los cladóceros son un grupo monofilético principalmente de agua dulce y un componente importante del zooplancton microcrustáceo (Forró *et al.*, 2007). *Alona guttata* es un cladóceros cosmopolita que se encuentra en reservorios de Asia (Sharma y Sharma, 2011), África (Van Damme y Eggermont, 2011), Brasil (Boronat *et al.*, 2001), Tailandia (Saeng-aroon y Sanoamuang, 2002), España (Sabater, 1987) y México (Sinev y Silva-Briano, 2012). Los rotíferos son un grupo diverso y abundante (Ismail y Zaidin, 2015), que son predominantemente cosmopolita (Dumont, 1983).

La toxicidad aguda de los piretroides en los mamíferos es baja (Kranthi *et al.*, 2001), sin embargo, se ha demostrado que los insecticidas piretroides son extremadamente tóxicos para los organismos acuáticos en el rango de concentración de  $\text{ng L}^{-1}$  (Zhou *et al.*, 2019). Estos  $\text{CL}_{50}$  son similares a los de mosquitos, moscas negras y larvas de moscas tsetse, para las cuales los piretroides se utilizan a menudo en control de vectores (Sayeed *et al.*, 2003). Muchos efectos adversos ocurren a concentraciones por debajo de  $1 \text{ pg L}^{-1}$ , en invertebrados acuáticos como dáfidos, copépodos y quironómidos incluidos los efectos sobre la reproducción, el crecimiento y el comportamiento (Bradbury *et al.*, 1987; Anderson, 1989). Garza-León *et al.* (2017) encontraron valores tan bajos de  $\text{CL}_{50}$  como  $3.77 \times 10^{-2} \text{ mg L}^{-1}$  para la especie acuática (cladóceros) *Alona guttata* expuesta al piretroide cipermetrina, que ejerció efectos perturbadores endocrinos sobre esta especie e inclusive el crecimiento somático de *A. guttata* se inhibió con la exposición crónica a cipermetrina.

### 1.7.1.1 Bioacumulación

Los piretroides son considerados los plaguicidas ideales porque no son persistentes y se metabolizan rápidamente ( $< 60$  días) y por lo tanto no se bioacumulan (Aznar-Alemany y Eljarrat, 2020a). Sin embargo, se han informado problemas, tales como resistencia, toxicidad letal/subletal para mamíferos, organismos acuáticos y otros organismos benéficos (Zhu *et al.*, 2020). Se ha demostrado que los insecticidas piretroides pueden llegar a reservorios de agua (Gan *et al.*, 2005) ya que se adsorben fácilmente al sedimento debido a su muy baja solubilidad en agua (de  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y a su alta hidrofobicidad (Laskowski, 2002). Se ha documentado la evidencia de su bioacumulación en varias publicaciones científicas (e.g. Alonso *et al.*, 2012; Aznar-Alemany y Eljarrat, 2020b; Rivera-Dávila *et al.*, 2021).

El uso extensivo de pesticidas exige un conocimiento profundo de la generación de residuos y su destino (Mestres y Mestres, 1992). La identificación de peligros es un aspecto importante de la evaluación química, pero el riesgo ambiental es un problema fundamental relacionado con la calidad de la salud ambiental y la salud humana; el riesgo ambiental incluye la cantidad de químicos liberados en el medio ambiente, su destino, transporte, toxicidad y acumulación (Arnot y Gobas, 2006).

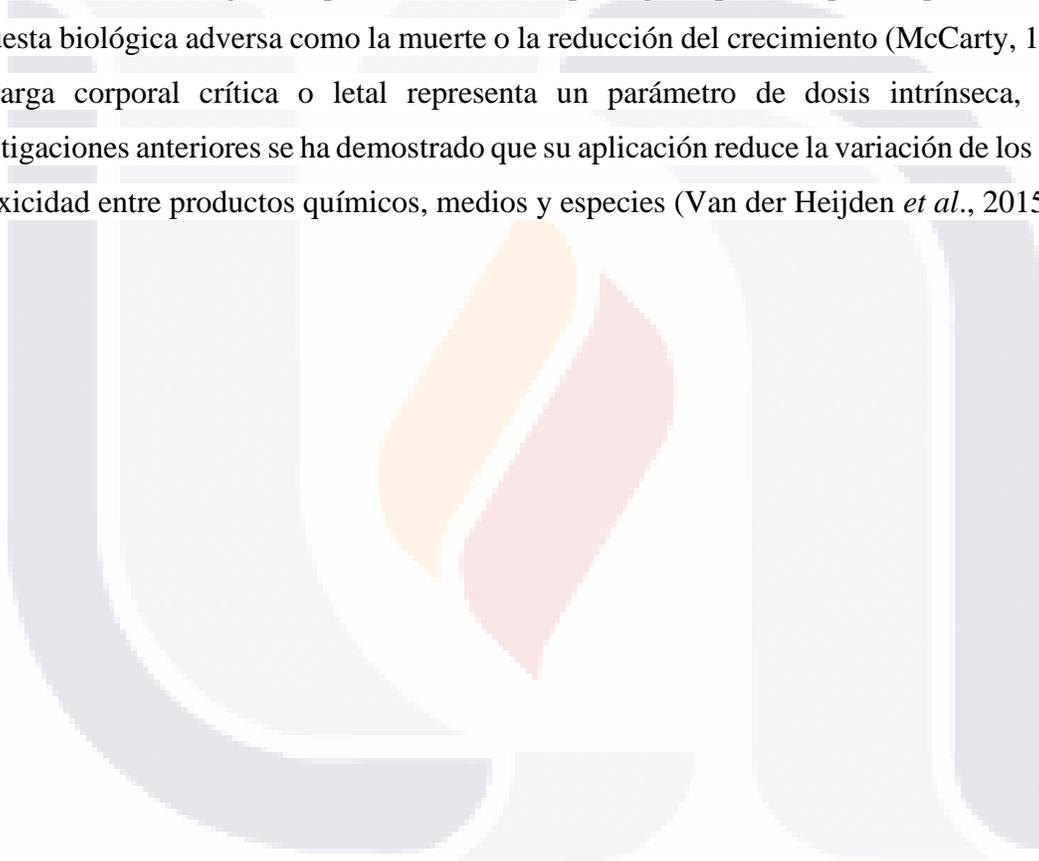
Un paso clave para comprender el efecto de los productos químicos en la biota es describir la relación entre las concentraciones en los organismos, en el medio ambiente y la toxicidad potencial. Los procesos capaces de influir en estas relaciones son los de bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación (Gobas y Morrison, 2000). La evaluación de bioacumulación es importante en la evaluación científica de los riesgos que los productos químicos pueden representar para los humanos y el medio ambiente (Arnot, y Gobas, 2006). La bioacumulación en organismos se describe comúnmente mediante el factor de bioconcentración (BCF), que es la relación entre la concentración en el cuerpo de un organismo y la concentración en el medio que habita (Katagi, 2010).

En el campo de la ecotoxicología, el efecto tóxico de una sustancia química para un organismo generalmente se expresa como concentración efectiva en el medio de exposición externo (por ejemplo,  $CL_{50}$ ). Las evaluaciones de riesgo de tóxicos se basan típicamente en la evaluación de las concentraciones de exposición, sin embargo, las concentraciones en el medio son muy variables, y esta variación de datos de la concentración externa es mayor

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

como resultado de las diferencias en la absorción química, la biodisponibilidad y el metabolismo (Van der Heijden *et al.*, 2015), mientras que la carga corporal puede proporcionar una mejor medida integrada del tiempo de exposición a pesticidas y efectos potenciales (Shahid *et al.*, 2018).

El concepto de carga corporal letal (LBB por sus siglas en inglés: Lethal Body Burden) o crónica (CBB por sus siglas en inglés: Chronic Body Burden) muestra las ventajas de vincular los efectos tóxicos directamente con la exposición interna. El LBB se define como la concentración de tejido expresada en moles por kg de peso corporal, que causa una respuesta biológica adversa como la muerte o la reducción del crecimiento (McCarty, 1987). La carga corporal crítica o letal representa un parámetro de dosis intrínseca, y en investigaciones anteriores se ha demostrado que su aplicación reduce la variación de los datos de toxicidad entre productos químicos, medios y especies (Van der Heijden *et al.*, 2015).



## 2. JUSTIFICACIÓN

Los escarabajos del género *Dendroctonus* son los principales agentes perturbadores naturales de los bosques de coníferas e incluyen algunas de las plagas forestales económicamente más importantes del mundo. En México, cada año miles de hectáreas de bosque se ven afectadas por estos insectos. Una estrategia de combate para tratar de disminuir y controlar este problema es recurrir al uso de semioquímicos. Existen varios productos semioquímicos comercialmente desarrollados ya sea para sistemas de monitoreo (atrayentes) o en formulaciones de liberación lenta para interrumpir la localización del hospedero (antiagregantes). Estas formulaciones han llegado a tener éxito para controlar ataques de esta plaga, pero en ocasiones existe la necesidad de aplicar plaguicidas para disminuir el problema. Los plaguicidas piretroides son una alternativa menos dañina para el medio ambiente, en comparación con los plaguicidas antes usados (organoclorados, organofosforados), sin embargo, se sabe de problemas de toxicidad de éstos en organismos acuáticos.

Por lo tanto, es importante el estudio de los semioquímicos y piretroides como una alternativa amigable con el medio ambiente. Al mismo tiempo tenemos que asegurarnos que los semioquímicos no conlleven efectos secundarios a organismos no diana. Los invertebrados dulceacuícolas representan un modelo eficiente de organismos no diana, ecológicamente relevante y sencillo para estudiar la toxicidad de compuestos como piretroides y semioquímicos. Por tanto, el estudio de la toxicidad de insecticidas piretroides y semioquímicos (usando invertebrados dulceacuícolas) para controlar insectos descortezadores es relevante científicamente, ya que se genera información que permite asegurar o no la bondad con el medio ambiente de las estrategias de combate escarabajos descortezadores del género *Dendroctonus*.

### 3. HIPÓTESIS

Los insecticidas y semioquímicos usados para control del descortezador (*Dendroctonus* spp) no representan ningún tipo de riesgo ambiental.

### 4. OBJETIVO GENERAL

Determinar si los insecticidas y semioquímicos utilizados en el control del descortezador (*Dendroctonus* spp) son seguros para el ser humano y el medio ambiente, incluyendo especies no diana como invertebrados dulceacuícolas.

#### 4.1 Objetivos específicos

1.- Realizar pruebas de toxicidad aguda para obtener los valores  $CL_{50}$  de los plaguicidas deltametrina, bifentrina y  $\alpha$ -cipermetrina y de los semioquímicos MCH (3,2-metilciclohex-2-en-1-ona) y Verbenona (4,6,6-trimetilbicyclo [3.1.1]-hept-3-en-2-ona) en el descortezador (*Dendroctonus* spp) y en organismos no diana (rotíferos y cladóceros).

2.-Determinar  $EC_{50}$  de los plaguicidas deltametrina, bifentrina y  $\alpha$ -cipermetrina y de los semioquímicos MCH (3,2-metilciclohex-2-en-1-ona) y Verbenona (4,6,6-trimetilbicyclo [3.1.1]-hept-3-en-2-ona) en organismos no diana (rotíferos y cladóceros) mediante la prueba crónica de inhibición del crecimiento.

3.-Determinar la incorporación (bioacumulación) de los insecticidas (Deltametrina, Bifentrina y  $\alpha$ -Cipermetrina) y de los semioquímicos (MCH y Verbenona) tanto en organismos diana (descortezadores) como en organismos no diana (rotíferos y cladóceros).

4.- Determinar la presencia de los insecticidas (Deltametrina, Bifentrina y  $\alpha$ -Cipermetrina) en suelo, agua y sedimento en áreas donde haya aplicación como control químico para el descortezador (*Dendroctonus* spp).

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en condiciones de laboratorio en el Laboratorio de Toxicología Acuática de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y en el Laboratorio de Sanidad Forestal y Agrícola del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Aguascalientes, México.

### 5.1 Reactivos y químicos

#### 5.1.1 Plaguicidas

Los insecticidas utilizados fueron estándares de alta pureza: Bifentrina (BF) 99,2%, Cipermetrina (CM) 98% y Deltametrina (DM) 99,9%, todos adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.).

#### 5.1.2 Semioquímicos

Estándar de 3-metil-2-ciclohexen-1-ona (MCH) con 98% de pureza y (1S) - (-) - Verbenona (4,6,6 Trimetilbicyclo [3.1.1] hept-3-en-2-ona) (VB) Pureza  $\geq 99,0\%$  ambos adquiridos de Aldrich Chemistry, St. Louis, MO, EE. UU.

#### 5.1.3 Soluciones stock

Se prepararon soluciones madre a partir de los estándares de plaguicidas y semioquímicos a  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , disolviendo la cantidad correspondiente en acetona (JT Baker, Phillipsburg, N.J., EE. UU.) Debido a su limitada solubilidad en agua de los compuestos a evaluar, se utilizó acetona como solvente para preparar las soluciones stock. Las concentraciones en agua de todos los compuestos evaluados nunca sobrepasaron sus solubilidades en agua a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Las propiedades fisicoquímicas de los compuestos a evaluar se presentan en la Tabla 2. Cada solución de trabajo (plaguicidas y semioquímicos) se preparó una concentración de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . Estas soluciones de trabajo se utilizaron para enriquecer las muestras en la optimización del procedimiento de extracción, para la validación del estudio y para preparar

los estándares de calibración para la curva (1.0 hasta 0.0001 mg L<sup>-1</sup> para cada plaguicida y semioquímico). Todos los estándares se mantuvieron a -20 °C antes de su uso.

**Tabla 2.** Propiedades fisicoquímicas de los compuestos en estudio.

Compuesto	Tipo	Peso molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Solubilidad en	Log Kow
			agua a 25 °C (mg L <sup>-1</sup> )*	
<b>Bifentrina</b>	Piretroide	422.9	5.1x10 <sup>-3</sup>	6.6 <sup>c</sup>
<b>Cipermetrina</b>	Piretroide	416.3	3.92x10 <sup>-2</sup>	5.3 <sup>c</sup>
<b>Deltametrina</b>	Piretroide	505.2	4.25x10 <sup>-2</sup>	4.6 <sup>c</sup>
<b>Verbenona</b>	Semioquímico	150.21	1,083	2.16 <sup>a</sup>
<b>MCH</b>	Semioquímico	110.16	3,480	1.7 <sup>b</sup>

\*Valores estimados con el programa EPI Suite™. (Programa de estimación del programa Interface Suite™).

<sup>a</sup>Valores tomados del USDA, Servicio Forestal. Salud Humana y Evaluación de Riesgos Ecológicos. Verbenona.

<sup>b</sup>Valores tomados del USDA, Servicio Forestal. Salud Humana y Evaluación de Riesgos Ecológicos. Metilciclohexen-1-ona (MCH).

<sup>c</sup>Valores tomados de AERU - Unidad de Investigación de Agricultura y Medio Ambiente (Universidad de Hertfordshire) (2007).

## 5.2 Cuantificación de plaguicidas y semioquímicos

Además de las concentraciones nominales, se determinaron las concentraciones reales de insecticidas y semioquímicos utilizando la técnica de microextracción en fase sólida-inmersión directa (SPME-ID) en las muestras de exposición. En el caso de muestras acuosas (medio EPA) se utilizó el protocolo de Beltrán *et al.* (2003). La fibra utilizada para la extracción SPME fue la revestida con polidimetilsiloxano y divinilbenceno PDMS/DVB (65 µm) (Supelco, Bellefonte, PA, EE.UU.), con inyección manual. Esta fibra fue seleccionada debido a su mayor afinidad por los químicos analizados en este trabajo según se determinó en corridas anteriores.

El análisis químico de plaguicidas y semioquímicos se realizó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC/MS) de Agilent Technologies modelo 7820A,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

con columna capilar (HP-5MS, Agilent, (5% -Penil) -metilpolisiloxano; 30 m × 0.25 mm ID × 0.25 μm, EE. UU.) Utilizando helio (99.99% de pureza) como gas portador con un flujo de 1.0 ml min<sup>-1</sup>, con un detector selectivo de masas (MSD, Agilent Technologies 5975) operado en modo de inyección splitless a 280 °C. La rampa de temperatura del horno utilizada fue: temperatura inicial de 90 °C con un aumento de 30 °C min<sup>-1</sup> hasta 265 °C, luego un aumento de 2 °C min<sup>-1</sup> hasta 276 °C, y en espera durante 1 min. Luego, hubo un aumento de 2 °C min<sup>-1</sup> hasta 279 °C, luego se mantuvo durante 1 min; por último, se aumentó 4 °C min<sup>-1</sup> hasta 290 °C. El tiempo de ejecución total fue de 17.58 min. Finalmente, se añadió un período de post-run de 2 min a 300 °C. Las condiciones del detector de masas fueron: temperatura de transferencia en línea a 250 °C. Temperatura de la fuente de iones a 230 °C. La energía del impacto de los electrones fue de 70 eV. El análisis se realizó en el modo SIM (monitoreo de iones seleccionados) para cada pesticida. Se utilizaron un ión objetivo principal y dos iones calificadores como sigue: 181, 165 y 166 BF; 181, 163 y 209 CM; 181, 251 y 253 DM; 107, 135 y 150 VB; 82, 110 y 54 MCH. La confirmación de la detección correcta se realizó en modo de escaneo completo (utilizando todos los iones) con los estándares correspondientes. Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se calcularon como una relación señal/ruido de tres y diez veces, respectivamente.

### 5.3 Cultivo de los organismos zooplanctónicos

Los cultivos madre de *A. guttata* y *L. papuana* se cultivan desde hace al menos 5 años en el Laboratorio de Toxicología Acuática de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, México. Todos los organismos se cultivaron en medio sintético EPA (60 mg CaSO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 60 mg MgSO<sub>4</sub>, 96 mg NaHCO<sub>3</sub> y 4 mg KCl por litro) (US EPA, 1985) con dureza entre 70-110 mg L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub> a pH 7.5 preparado con agua desionizada (Water Pro PS System Labconco, Co). Los organismos se mantuvieron a 25 ± 2 °C y fotoperiodo 16: 8 (claro: oscuro) en una cámara bioclimática (Revco Scientific Inc.) y se alimentaron con el alga verde *Nannochloropsis oculata* (cepa LB2164 de UTEX, Colección de Cultivos de Algas en la Universidad de Texas en Austin) cultivado en medio basal de Bold (Nichols, 1973).

#### 5.4 Muestras de insectos descortezadores

Para detectar árboles atacados por insectos descortezadores, se hicieron visitas a las Sierras de Aguascalientes y Durango, México y se mantuvo comunicación con personal técnico de CONAFOR. Se ubicó un árbol en la Sierra Fría, Aguascalientes (22°10' 23.7" N, 102°37' 0.6" WW), con evidencia de ataque de acuerdo a la coloración amarillenta-rojiza de la copa del árbol. El árbol infestado se derribó, se descortezó y posteriormente, se cortó la corteza en trozas de tamaño de 20 a 25 cm de lado. Las cortezas se almacenaron en frascos de plástico (las cortezas llevaban dentro de sus galerías insectos descortezadores) posteriormente fueron llevados al Laboratorio de Sanidad Forestal y Agrícola del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Aguascalientes, México. Las cortezas, con los descortezadores dentro, se mantuvieron en un fotoperíodo de 16:8 h (Luz: Oscuridad) y a una temperatura de 25 °C. Los adultos que emergieron de la madera se recolectaron con ayuda de unas pinzas y se colocaron dentro de vasos de plástico (5 cm de diámetro y 5 cm de altura). Estos insectos fueron utilizados para las pruebas de toxicidad y bioacumulación. Todos insectos utilizados en los bioensayos tuvieron menos de 1 d de emergencia de la madera.

#### 5.5 Ensayo de toxicidad aguda (48 h) con el cladóceros *Alona guttata*

Inicialmente se realizaron pruebas de toxicidad para determinar el rango de toxicidad de cada plaguicida o semioquímico. Las pruebas definitivas consistieron en un control de solvente negativo y cinco concentraciones de cada plaguicida o semioquímico. Para ello se siguió el protocolo de Osorio-Treviño *et al.* (2019). Brevemente, la prueba se realizó en placas de poliestireno de 24 pocillos (Costar Co. EE. UU.), transfiriendo 10 neonatos por pocillo. Se eligieron hembras grávidas 24 h antes del inicio de la prueba. Se utilizaron neonatos de menos de 24 h para la prueba. Se realizaron diluciones en medio EPA para ajustar cada concentración a un volumen total de 2 ml y el pH se ajustó a 7.5 con KOH (U.S. EPA, 1985). Se analizaron cinco concentraciones y un control negativo y disolvente para cada tóxico, de la siguiente manera: para BF (0.952, 4.76, 9.52, 14.28 y 16.66  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), para CM (4.96, 9.91,

14.87, 19.83 y 24.79  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), para DM (0.0117, 0.0585, 0.117, 0.585 y 1.17  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), para VB (1.17, 2.35, 5.88, 70.56 y 94.08  $\text{mg L}^{-1}$ ), y para MCH (26.25, 52.50, 105.8, 210.2 y 420.01  $\text{mg L}^{-1}$ ). Se realizaron cuatro réplicas para cada concentración, y las muestras se incubaron a  $25 \pm 2$  °C durante 48 h y un fotoperíodo de 16: 8 h luz: oscuridad. La iluminación varió entre 600 y 1,100 luxes. La temperatura se midió con un termómetro digital e higrómetro Avaly Modelo EDT-1-55 (Santa Clara, CA) y la iluminación se midió con un iluminómetro (Kyoritsu Electrical Instruments, Tokio, Japón). Tanto la iluminación como la temperatura se regularon con una cámara bioclimática Revco Scientific (Asheville, NC, EE. UU.). Los recuentos de mortalidad se realizaron 48 h después del tratamiento.

### **5.6 Ensayo de toxicidad aguda (48 h) con el rotífero *Lecane papuana***

Se siguió el protocolo de Pérez-Legaspi y Rico-Martínez (2001). Se aisló una cantidad suficiente de huevos partenogénicos (ya aclimatados a  $25 \pm 2$  °C) en una placa de Petri limpia con medio EPA. Doce horas después se obtuvieron neonatos de *Lecane papuana*; se utilizaron diez recién nacidos para cada réplica, con cinco réplicas por nivel de tratamiento. Se analizaron cinco concentraciones y un control negativo para cada tóxico, de la siguiente manera: para BF (4.97, 14.90, 19.87, 198.7 y 298.06  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), para CM (34.16, 63.44, 82.96, 97.67 y 146.4  $\text{mg L}^{-1}$ ), para DM (9.42, 23.56, 47.12, 94.24 y 235.6  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), para VB (22.32, 223.2, 446.4, 669.6 y 892.81  $\text{mg L}^{-1}$ ), y para MCH (268.25, 536.5, 804.75, 1073.02 y 1609.5  $\text{mg L}^{-1}$ ). Todas las concentraciones se ajustaron a un volumen final de 1 ml con medio EPA. Los organismos de prueba se expusieron a las sustancias químicas a  $25 \pm 2$  °C durante 48 h con un fotoperíodo de 16: 8 h (luz: oscuridad), y una iluminación osciló entre 600 y 1.100 luxes en una cámara bioclimática (Revco Scientific, Asheville, NC, EE. UU.). Los recuentos de mortalidad se realizaron 48 h después del tratamiento.

### **5.7 Prueba de toxicidad crónica (inhibición del crecimiento) en los organismos zooplanctónicos**

Para las pruebas de inhibición del crecimiento se utilizaron neonatos <12 h. Se analizaron cinco tratamientos con seis repeticiones cada uno. Los tratamientos consistieron en 1/5, 1/10, 1/50, 1/100 y 1/1000 de sus respectivas  $\text{CL}_{50}$ . Para este experimento, se colocaron cinco

neonatos por pocillo en una placa de poliestireno de 24 pocillos en un volumen final de 2 mL. El alga verde *Nannochloropsis oculata* se añadió como alimento a una concentración final de  $1 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  para *L. papuana* (Perez-Legaspi y Rico-Martínez, 1998) y  $2 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  para el cladóceros *A. guttata* (OCDE, 2012a). Las placas se incubaron a  $25 \pm 2$  °C durante 5 días (Hernández-Flores y Rico-Martínez, 2006) para el rotífero y 14 días (Garza-León *et al.*, 2017) para el cladóceros; con un fotoperíodo de luz oscuridad 16: 8 h en una cámara bioclimática (Revco Scientific, Asheville, NC, EE. UU.). Al final del período correspondiente para cada prueba se contó el número de organismos. Para el cálculo de la tasa de crecimiento intrínseca,  $r$ , se utilizó la siguiente fórmula:

$$r = \frac{\ln Nt - \ln No}{t}$$

Donde  $\ln$  es el logaritmo natural,  $Nt$  es el número de organismos vivos en el pozo al final del experimento,  $No$  corresponde al número inicial de organismos en el pozo,  $t$  es el tiempo de exposición y  $r$  corresponde a la tasa de crecimiento intrínseca.

## **5.8 Ensayos de toxicidad aguda (48 h) con el insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus***

### **5.8.1 Método de aplicación en la corteza**

Se siguió el protocolo de Fettig *et al.* (2011) con algunos cambios. La corteza del pino hospedero recolectada se cortó en pequeñas trozas cuadradas de 3 cm de lado a las cuales se les aplicó 0.5 mL de los diferentes insecticidas a las diferentes concentraciones y una troza de corteza con 0.5 mL de acetona como control. Los trozos de cortezas se dejaron en una campana de extracción durante 2 h para permitir la eliminación del solvente (acetona), posteriormente las cortezas se colocaron en los frascos de plástico (5 cm de diámetro y 5 cm de altura) a los cuales se les realizó 20 pequeños orificios ( $\approx 1$  mm de diámetro) para permitir la circulación de aire. Se colocaron los insectos descortezadores dentro de cada frasco permitiendo la libre interacción de éstos con la corteza. Los frascos con los insectos

descortezadores dentro se colocaron en una cámara bioclimática a una temperatura de 25 °C y un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad. Se utilizaron 10 insectos para cada réplica, con diez réplicas por nivel de tratamiento. Se realizaron estudios de búsqueda de rango para determinar las concentraciones de prueba apropiadas. Se analizaron cinco concentraciones y un control negativo para cada tóxico, de la siguiente manera: para bifentrina (0.2, 1.0, 10, 100 y 1000 mg L<sup>-1</sup>), para deltametrina (0.5, 1.0, 10, 100 y 1000 mg L<sup>-1</sup>) y para cipermetrina (0.2, 1.0, 5.0, 10 y 100 mg L<sup>-1</sup>). Se llevaron a cabo diez repeticiones para todos los tratamientos y controles. Se incubaron a 25 ± 2 °C durante 48 h con un fotoperiodo de 16: 8 h (luz: oscuridad), y una iluminación osciló entre 600 y 1.100 luxes en una cámara bioclimática (Revco Scientific, Asheville, NC, EE. UU.). Transcurrido ese tiempo se registró la mortalidad. Los valores de CL<sub>50</sub> se calcularon mediante el análisis Probit.

### **5.8.2 Método de aplicación tópica**

Se siguió el protocolo de Fang *et al.* (2010). Se realizaron estudios de búsqueda de rangos para determinar las concentraciones de prueba apropiadas. Se colocaron 10 insectos en un frasco de plástico con 20 orificios en la tapa para permitir la circulación de aire. Se analizaron cinco concentraciones y un control negativo para cada tóxico, de la siguiente manera: para bifentrina (0.02, 0.2, 1.0, 10 y 100 mg L<sup>-1</sup>), para deltametrina (0.05, 0.5, 1.0, 10 y 100 mg L<sup>-1</sup>) y para cipermetrina (0.2, 1.0, 5.0, 10 y 100 mg L<sup>-1</sup>). Se aplicaron 0.5 µL de cada solución de cada insecticida y del solvente como control en el *pronotum* de los insectos, después se incubaron a 25 ± 2 °C con un fotoperiodo de 16: 8 h (luz: oscuridad). Los recuentos de mortalidad se realizaron 48 h después de aplicado el tratamiento. Se llevaron a cabo diez repeticiones para todos los tratamientos y controles. Los valores de CL<sub>50</sub> se calcularon mediante el análisis Probit.

## **5.9 Pruebas de supervivencia con el insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus***

### **5.9.1 Probabilidad de supervivencia**

Se determinó la probabilidad de supervivencia siguiendo las dos metodologías antes mencionadas en las pruebas de toxicidad letal (aplicación tópica y en corteza) para cada insecticida. Se probaron cinco concentraciones diferentes (tratamientos): 100, 10, 5, 1, 0.5

mg L<sup>-1</sup> y un control (sólo solvente). Posteriormente se observó y se registró la mortalidad de los insectos cada 12 horas hasta observar la mortalidad de la totalidad de los insectos en cada insecticida y en cada concentración.

### 5.9.2 Expectativa de vida media

El método de la tabla de vida se utilizó para estimar la expectativa de vida media del insecto sometida a diferentes dosis de cada insecticida, y para comparar las curvas de supervivencia en los ensayos de aplicación tópica y aplicación en la corteza. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Expectativa de vida} = e_x = T_x/l_x$$

Donde:

$l_x$  = proporción de sobrevivientes

$T_x$  = días

### 5.10 Determinación de la especie de *Dendroctonus*

La especie de *Dendroctonus* que fue recolectada se identificó por medio del método de la extracción y observación de genitalia (Rios-Reyes *et al.*, 2008); este método consiste en la identificación de la especie mediante la extracción de la varilla seminal. Primero se separa el abdomen del resto del cuerpo, se coloca en un tubo *Eppendorf* con KOH al 10 % en baño María a 80 °C por 15 minutos. Al concluir la maceración, el abdomen se enjuaga con agua destilada, se deshidrata en alcohol etílico absoluto (99.9 %) por un minuto; se seca y se disecta para extraer la varilla seminal, la cual se coloca en una gota de Bálsamo de Canadá. Por último, se observa al microscopio y se compara con las ilustraciones de referencias taxonómicas del género *Dendroctonus*.

## 5.11 Pruebas de bioacumulación

### 5.11.1 Bioacumulación en *Alona guttata*

Dos mil neonatos de *A. guttata* (menos de 24 h de edad) fueron expuestos a cada insecticida o semioquímico en frascos de vidrio de 15 mL usando medio EPA. Se eligieron dos concentraciones ambientalmente relevantes (1/2 y 1/5 del valor de LC<sub>50</sub> para cada insecticida o semioquímico). Las concentraciones de absorción de cada uno de los cinco compuestos analizados no excedieron la solubilidad en agua a 25 °C. Los experimentos se realizaron en una cámara bioclimática a 25 °C y un fotoperiodo de 16: 8 h luz: oscuridad. Los recién nacidos se descartaron diariamente. Se utilizó *Nannochloropsis oculata* como alimento a  $1 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup>, que se dejó dos h diarias para evitar la acumulación de algas y evitar la entrada de compuestos a través de los alimentos (OCDE, 2012b). Luego de dos horas con las algas en medio EPA, los organismos se colocaron en filtros de membrana de policarbonato (Whatman®) con un tamaño de malla de 18 µm, y posteriormente se lavaron cuidadosamente con agua destilada para eliminar las algas y el medio EPA con el tóxico. Los organismos lavados se colocaron finalmente en medio EPA recién preparado y se ajustaron a la concentración deseada. Las concentraciones se midieron diariamente y se utilizó la media de las concentraciones para calcular los Factores de Bioconcentración (FBC).

Las concentraciones químicas se midieron utilizando los cuerpos de dos mil cladóceros después de cada período de absorción. La concentración en el cladóceros se midió cada dos días hasta que alcanzó el estado estacionario (en el que la concentración en el cuerpo del cladóceros no cambia al aumentar el tiempo de exposición) (OCDE, 2012b). Se observó que el estado estacionario se alcanzó en todos los compuestos analizados en 10 días de tiempo de exposición (2, 5, 7 y 10 días). La curva de absorción de cada químico se obtuvo trazando la concentración del cladóceros en la fase de absorción contra el tiempo en escalas aritméticas. Cuando la curva alcanzó una meseta, es decir, se volvió no sintónica con el eje del tiempo, se estableció que había alcanzado la etapa estacionaria (OECD, 2012b). Se realizó un ANOVA para asegurar que la concentración no cambiara con el tiempo.

### 5.11.1.1 Extracción y cuantificación de piretroides y semioquímicos del cuerpo del cladóceros *Alona guttata*

Se utilizó el protocolo de Manar *et al.* (2009) con ligeras modificaciones. Brevemente, después del período de absorción, se tomaron 2 mil individuos, los cuales fueron filtrados y lavados cuidadosamente con agua destilada, secados y homogenizados en un molinillo de vidrio (Potter-Elvehjem) con 1 mL de cloroformo/acetona (1:1 v/v) (grado analítico) para extraer los compuestos orgánicos del tejido. El polvo se extrajo usando 5 mL de una mezcla de cloroformo/acetona (60:40, v/v) durante 30 min en agitación y centrifugación a 1000 rev min<sup>-1</sup> durante 10 min. Se decantó el sobrenadante y se repitió una vez el proceso de extracción. La concentración de cada compuesto en el cladóceros se determinó mediante GC/MS. La eficiencia de la extracción y limpieza se determinó agregando concentraciones conocidas del químico de interés a los homogeneizados de organismos no expuestos a los tóxicos. La tasa de recuperación de las extracciones fue siempre superior al 89% para los cinco compuestos en los cuerpos de los cladóceros.

### 5.11.2 Bioacumulación en *Lecane papuana*

Durante las pruebas de toxicidad aguda de 48 h con el rotífero *Lecane papuana*, se determinaron las concentraciones inicial y final de cada compuesto (una concentración baja y una concentración alta). Se realizaron dos réplicas por cada tratamiento. Para calcular el BFC se calculó la cantidad de compuesto acumulado ( $q$ ) ( $\mu\text{g g}^{-1}$  de peso seco) utilizando el método de diferencias de concentración con la fórmula de Volesky y Holan (1995):

$$q = \frac{(C_o - C_t) V}{W}$$

Donde  $C_o$  es la concentración inicial del compuesto en el medio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $C_t$  es la concentración del compuesto en el tiempo " $t$ " ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $V$  es el volumen total de la muestra (L) y  $W$  (g), es el peso seco del rotífero. El BFC se determinó dividiendo la cantidad de compuesto acumulado en el cuerpo ( $q$ ) por la concentración del compuesto en la solución de exposición.

### 5.11.3 Bioacumulación en el insecto descortezador (*Dendroctonus mexicanus*)

Se determinó la cantidad bioacumulada de los tres insecticidas piretroides por los insectos descortezadores a los 10 d de exposición. Se expusieron 10 insectos descortezadores (*D. mexicanus*) a los tres insecticidas piretroides mediante el método de aplicación en la corteza descrito anteriormente con 10 réplicas (100 insectos por concentración). Las concentraciones a las que se expusieron los insectos fueron 1/2 y 1/5 de las  $CL_{50}$  obtenidas anteriormente para cada insecticida por el método de aplicación en la corteza. Transcurridos los 10 d de exposición se tomaron los 100 insectos de cada tratamiento, se lavaron al chorro de agua de la llave, después se lavaron con agua destilada, se dejaron secar en una estufa a 60 °C durante 3 días. Posteriormente se tomaron 50 insectos de un tratamiento, se colocaron en un mortero y se molieron hasta obtener un polvo, posteriormente se tomaron 0.2 g de ese polvo y se pasó a un tubo de polipropileno de 15 mL donde se agregó 5 mL de una mezcla de hexano:acetona (5:1 v/v) para extraer los insecticidas del cuerpo del insecto, se mezcló por 5 min con ayuda de un vórtex y posteriormente se centrifugó por 1 min a 2500 rev min<sup>-1</sup>. El procedimiento se repitió tres veces. Para asegurar la calidad de la extracción, una muestra de 0.2 g del insecto (sin exposición a insecticidas), se enriqueció con 5 mL de la mezcla de extracción ajustada a las dosis de 0.5 y 0.1 mg L<sup>-1</sup>. Los porcentajes de recuperación de los insecticidas del cuerpo del insecto fueron 109.23, 116.80 y 73.94% para bifentrina, deltametrina y cipermetrina, respectivamente (n=6).

El factor de bioacumulación (BAF) se calculó a partir de la ecuación  $BAF = C_b/C_w$  donde  $C_b$  fue la concentración promedio en el cuerpo del insecto y  $C_w$  fue la concentración promedio a la que se expuso el insecto. Debido a que el experimento se limitó a una especie, el BAF no se normalizó al contenido de lípidos del organismo (Gevao *et al.*, 2001). Para calcular la carga corporal letal (LBB) utilizamos la siguiente fórmula (McCarty, 1986):  $LBB = LC_{50} * BCF$ .

## 5.12 Toxicocinética

La siguiente ecuación describe el modelo cinético de primer orden utilizado para describir la absorción y excreción de los compuestos que se analizan:

$$dC_B/dt = k_1 * C_w - k_2 C_B$$

Donde;  $C_B$  ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) es la concentración del compuesto de prueba en el cuerpo del cladócero, y  $C_w$  ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) es la concentración de la solución de exposición en un momento dado,  $t$  (h);  $k_1$  ( $\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) y  $k_2$  ( $\text{h}^{-1}$ ) son las constantes de las tasas de absorción y excreción, respectivamente. Suponiendo que en  $t = 0$ , la concentración del compuesto de prueba es cero ( $C_{B0}$ ) y la concentración del compuesto de prueba en la solución de exposición es constante, la ecuación se transforma en:

$$C_B = k_1/k_2 * C_w (1 - e^{-k_2 t}) \text{ (consumo)} \quad C_B = C_{B0} * e^{-k_2 t} \text{ (depuración)}$$

Entonces, BCF se define como el cociente del compuesto de prueba (analito) en el cuerpo del organismo de prueba en la etapa estacionaria, de acuerdo con la directiva 305 (OCDE, 2012b). Entonces:  $\text{BCF} = C_B/C_w$

### 5.12.1 Tasa de depuración y tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ )

Se midieron dos concentraciones de cada compuesto de prueba (los tres insecticidas y los dos semioquímicos) (una alta y una baja) al inicio y al final de la prueba de toxicidad aguda de 48 h para ambas especies zooplanctónicas para determinar la velocidad con la que cada compuesto de prueba se elimina y/o metaboliza del medio por las condiciones ambientales y los organismos de prueba. La concentración nula con medio EPA se determinó como control negativo. Usamos la siguiente ecuación:

$$k_2 = \frac{\ln C_{w1} - \ln C_{w2}}{t_1 - t_2}$$

Donde:  $k_2$  es la tasa de depuración,  $C_{w1}$  es la concentración inicial en  $t = 0$ ,  $C_{w2}$  es la concentración final a las 48 h,  $t_1$  y  $t_2$  son el tiempo al comienzo y al final de la prueba, respectivamente. La tasa de excreción de la vida media ( $t_{1/2}$ , h) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$t_{1/2} = \ln 2/k_2$$

### **5.13 Peso seco (dw)**

#### **5.13.1 Peso seco de *Alona guttata***

Se colocaron dos mil neonatos de *A. guttata* de menos de 24 h de edad en medio EPA y se alimentaron con *Nannochloropsis oculata* a  $2 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> en cámara bioclimática a 25 °C y un fotoperiodo de 16: 8 h luz: oscuridad. Después de 10 días, 1000 adultos se lavaron cuidadosamente con agua destilada y luego se colocaron en un vial de vidrio de 2 mL (previamente pesado). Luego, el vial se secó a 60 °C en un horno durante 24 horas y se dejó enfriar a temperatura ambiente (alrededor de 25 °C), se pesó en una balanza analítica (A&D HR-200, rango: 0.1 mg a 200 g) para determinar el peso seco (n = 5).

#### **5.13.2 Peso seco de *Lecane papuana***

Se aislaron cinco mil hembras no ovígeras de *Lecane papuana* y se trasladaron a placa petri con agua desionizada para lavarlas, y luego se colocaron en un frasco de vidrio previamente pesado con ayuda de micropipetas de plástico. Las muestras se secaron durante 24 h a 60 °C y luego se dejaron enfriar a temperatura ambiente (n = 5). Se calculó el peso seco de un rotífero individual ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) para determinar la carga corporal de cada compuesto ( $\mu\text{g individuo}^{-1}$ ). Para calcular la Carga Corporal Letal (LBB) y la Carga Corporal Crónica (CBB) usamos las siguientes fórmulas (McCarty, 1986):  $LBB = LC50 * BCF$  y  $CBB = EC50 * BCF$ .

## 5.14 Persistencia del insecticida bifentrina en el medio ambiente

### 5.14.1 Muestras de suelo, agua y sedimento

Se detectó un pino (*Pinus teocote*) que mostraba signos de infestación por insectos descortezadores (la copa de los árboles color amarillenta-rojiza) localizado en San José de Gracia, Aguascalientes, México (22°10' 23.7" N, 102°37' 0.6" WW). Se realizó saneamiento al pino (de 25 m de altura y 71 cm de diámetro). El saneamiento se realizó por el personal al cuidado del bosque como indica la norma mexicana (NOM-019-SEMARNAT-2017). Se realizó derribo y troceo del árbol infestado y posterior aplicación de bifentrina. El saneamiento fue hecho el día 12 de julio de 2019 donde se aplicó Talstar 100 EC® (100 g de bifentrina como ingrediente activo por litro, (Filadelfia, PA, EE. UU.). Se prepararon 40 L de solución la cual se repartió sobre toda la superficie del árbol derribado y sobre las cortezas.

Se hicieron recolectas de agua, suelo y sedimento. El día que se realizó el saneamiento se obtuvo la primera muestra de suelo del sitio de aplicación del plaguicida (suelo debajo y a un lado del tronco donde se aplicó el plaguicida). La segunda recolecta se realizó el día 29 de julio de 2019 (18 días después de la aplicación). Se recolectaron muestras de suelo en el sitio de aplicación además suelo de 20 y 40 m de distancia del sitio de aplicación para determinar si ocurrió arrastre del plaguicida por escorrentía del agua de lluvia. También se recolectaron muestras de agua y sedimento de un arroyo cercano donde corría agua de lluvia a dos diferentes distancias (60 m y 200 m del sitio de aplicación) para determinar si se presenta contaminación de los reservorios de agua cercanos al sitio de aplicación. La tercer recolecta se realizó el día 13 de agosto de 2019, donde se recolectaron suelo del sitio de aplicación, 20 y 40 m corriente abajo del sitio de aplicación, agua y sedimento del río cercano al sitio de saneamiento (60 y 200 m corriente abajo del sitio de aplicación). La cuarta y última recolecta se realizó el día 28 de noviembre de 2019, donde se recolectaron muestras de los mismos sitios recolectados en las ocasiones pasadas.

Las muestras de suelo se recolectaron en bolsas de plástico Ziploc®, el agua y sedimento se recolectó en botellas de plástico. Todo el material fue nuevo y limpio. Las muestras

recolectadas se trasladaron inmediatamente al Laboratorio de Sanidad Forestal y Agrícola del CEPAB, INIFAP, Aguascalientes, donde se analizaron inmediatamente. Las muestras de agua se analizaron siguiendo el método reportado por Beltrán *et al.* (2003) y las muestras de suelo y sedimento se analizaron por el método reportado por Liu y Gan (2004). Como control de calidad se determinaron los porcentajes de recuperación, para esto se enriquecieron las tres diferentes matrices (agua, suelo y sedimento) con el insecticida bifentrina a dos diferentes concentraciones, una alta ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) y una baja ( $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ).

## **5.15 Análisis estadístico**

### **5.15.1 Dosis letales**

Los datos obtenidos se analizaron con Statistica 10.0 (StatSoft Inc. 2004). Los datos de mortalidad en las pruebas de toxicidad aguda se utilizaron para obtener unidades probit de la Tabla de Finney (1952). Los valores de  $CL_{99}$ ,  $CL_{50}$  y  $CL_{10}$  (concentración letal donde mueren el 99%, 50% y 10% de los organismos, respectivamente) y  $r^2$  se obtuvieron mediante análisis de regresión entre unidades probit y el logaritmo de la concentración de cada tóxico. Los valores de concentración de efecto no observado (NOEC) y concentración más baja de efecto observado (LOEC) se determinaron mediante ANOVA de una vía y análisis post-hoc de las medias utilizando Tukey HSD ( $p < 0.05$ ). Los valores de  $CE_{50}$  y  $CE_{10}$  (la concentración donde se observa una reducción del 50% y 10% en el valor de la tasa de crecimiento instantáneo ( $r$ ), respectivamente) se calcularon mediante regresión lineal entre las concentraciones de cada compuesto de prueba y el valor medio de  $r$ .

### **5.15.2 Pruebas de supervivencia**

El método de la tabla de vida se utilizó para estimar la probabilidad de supervivencia y la expectativa de vida media de *D. mexicanus* sometida a diferentes dosis de cada insecticida. La expectativa de vida de los insectos se analizó mediante una prueba de hipótesis no paramétrica de chi-cuadrada ( $X^2$ ) para comparar los resultados en la aplicación tópica y la aplicación en la corteza. Para determinar la efectividad de los diferentes insecticidas

piretroides y de cada concentración se realizó un ANOVA de una vía y un análisis post-hoc de las medias de la expectativa de vida media utilizando Tukey HSD ( $p < 0.05$ ).



## 6. RESULTADOS

### 6.1 Determinación de la especie de *Dendroctonus*

La especie recolectada en el sitio de la infestación fue *Dendroctonus mexicanus* (n=20).

### 6.2 Validación de método de extracción y cuantificación

El método se validó mediante la determinación de la linealidad, los límites de detección (LOD por sus siglas en inglés: Limit of Detection) y la cuantificación (LOQ por sus siglas en inglés: Limit of Quantification), los porcentajes de recuperación en diferentes niveles de enriquecimiento y la reproducibilidad (precisión intra-día, CV%). El método mostró linealidad en la calibración ( $r^2 \geq 0.98$ ). Las curvas se realizaron con soluciones estándar de cada pesticida y semioquímico, utilizando siete concentraciones 1.0, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005 y 0.001 mg L<sup>-1</sup> para los tres plaguicidas (cipermetrina, deltametrina y bifentrina), y los dos semioquímicos (verbenona y MCH). La bifentrina y la verbenona mostraron una señal muy alta por lo que se les realizó una dilución 1:10 para igualar la altura de los picos. Se graficó el promedio de la suma del área de los picos (mezcla de isómeros, n=3) de cada plaguicida frente a las diferentes concentraciones del mismo. La Tabla 3 muestra el análisis de regresión para los tres plaguicidas y los dos semioquímicos, todos con un  $r^2$  aceptable y límites de detección (LOD) de 0.001 mg L<sup>-1</sup>, excepto bifentrina con 0.0001 mg L<sup>-1</sup>. Además, se observan los límites de cuantificación (LOQ) de 0.003 para todos los pesticidas excepto el de la bifentrina que fue de 0.0003 mg L<sup>-1</sup>. Los porcentajes de recuperación de los plaguicidas en medio EPA se determinaron en dos concentraciones (medio EPA enriquecido con 0.5 y 0.05 mg L<sup>-1</sup>; n = 6 para cada pesticida o semioquímico y concentración) los cuales fueron 94.58, 95.04 y 89.23% (n = 12) para bifentrina, cipermetrina y deltametrina, respectivamente (Tabla 4), todos ellos con desviaciones estándar que van desde 11.39 hasta 19.77%. La Figura 1 muestra un cromatograma modo iones seleccionados (SIM por sus siglas en inglés: Selected Ions Method) donde se observan los picos correspondientes a los tres plaguicidas a una concentración de 1 mg L<sup>-1</sup> (bifentrina 1:10) y sus respectivos tiempos de retención. La Figura 2 muestra un cromatograma correspondiente a los dos semioquímicos (verbenona 1:10). Todos los compuestos a evaluar presentan una señal visible y clara. El análisis de reproducibilidad (Intra-día) se realizó a las mismas concentraciones utilizadas

para los porcentajes de recuperación. La tabla 5 muestra los valores de los coeficientes de variación (CV%) obtenidos de cada pesticida, los cuales oscilan de 10.12% a 21.24 % para ambas concentraciones.

**Tabla 3.** Análisis de regresión y curva de calibración para los insecticidas piretroides y semioquímicos estudiados.

Insecticida	Tiempo de Retención (min)	Ecuación de la curva	r <sup>2</sup>	LOD (mg L <sup>-1</sup> )	LOQ (mg L <sup>-1</sup> )
Bifentrina	8.48	$y = 2.50E^7 + 6.36 E^9 * x$	0.98	0.0001	0.0003
Cipermetrina	11.44, 11.57, 11.70	$y = 2.74E^6 + 9.59E^8 * x$	0.99	0.001	0.003
Deltametrina	14.12, 14.58	$y = 2.97E^2 + 2.164E^8 * x$	0.99	0.001	0.003
MCH	9.415	$y = 5.20E^6 + 2.437E^7 * x$	0.99	0.001	0.003
Verbenona	16.165	$y = 3.11E^7 + 2.05 E^7 * x$	0.99	0.0001	0.0003

LOD=Límite de detección, LOQ= límite de Cuantificación. n=3.

**Tabla 4.** Porcentajes de recuperación para los insecticidas piretroides y semioquímicos en medio EPA enriquecido en dos niveles (alto y bajo) de concentración para cada compuesto.

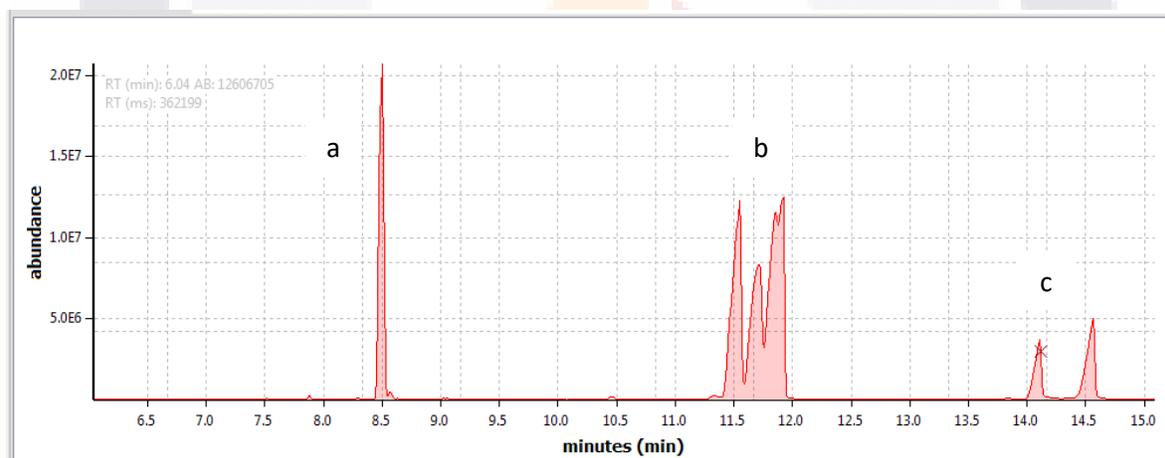
Insecticida/ semioquímico	Nivel alto (0.5 mg L <sup>-1</sup> , n=6)	Nivel bajo (0.001 mg L <sup>-1</sup> , n=6)	Recuperación (n=12)	CV%
Bifentrina	114.24 %	74.93 %	94.58 %	11.39
Cipermetrina	86.16 %	103.92 %	95.04 %	19.77
Deltametrina	92.25 %	86.21 %	89.23 %	12.39
MCH	104.78 %	86.14 %	95.46 %	5.27 %
Verbenona	97.90 %	89.63 %	93.76 %	12.58 %

CV= Coeficiente de variación

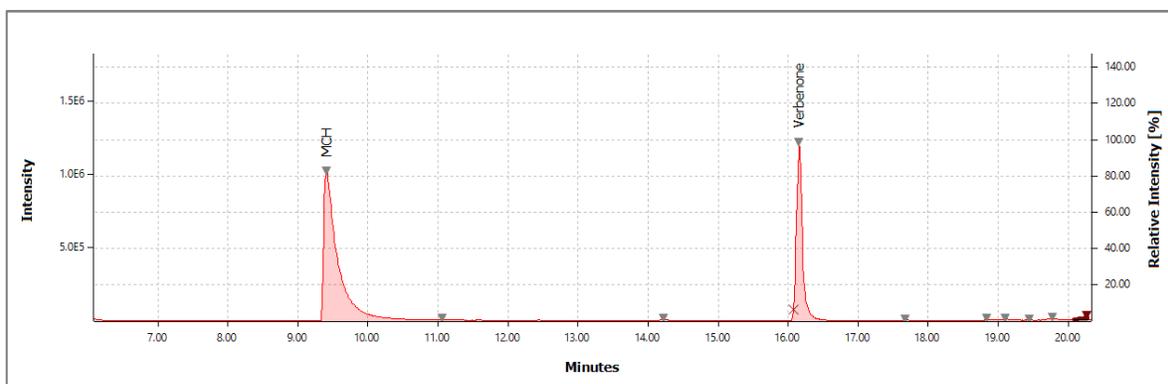
**Tabla 5.** Reproducibilidad (Intra-día) del método SPME-DI (Microextracción en Fase Sólida-Inmersión Directa) en la detección de plaguicidas piretroides en muestras de agua.

Insecticida/ Semioquímico	CV% (0.5 mg L <sup>-1</sup> )	CV% (0.001 mg L <sup>-1</sup> )
Bifentrina	12.67	10.12
Cipermetrina	14.24	18.30
Deltametrina	10.14	14.64
MCH	17.22	6.77
Verbenona	3.32	10.01

CV(%)= Coeficiente de variación para un promedio de 6 réplicas para cada plaguicida enriquecidos en dos diferentes concentraciones (alta=0.5 mg/L y baja=0.005 mg/L).



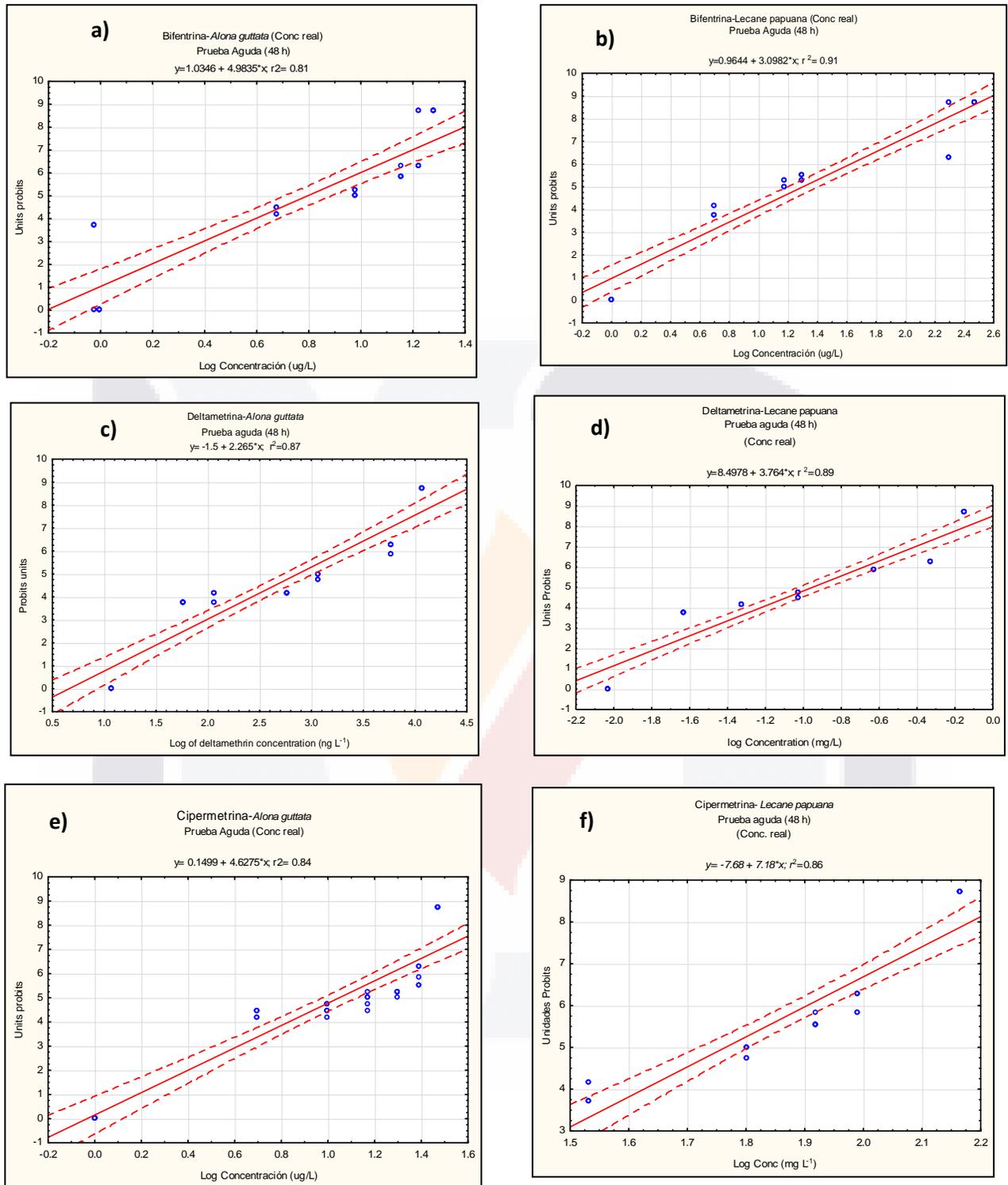
**Figura 1.** Cromatograma (en modo SIM) de los tres plaguicidas piretroides, identificados y cuantificados por el método SPME-ID: a) Bifentrina (1:10), b) Cipermetrina y c) Deltametrina. N=3.



**Figura 2.** Cromatograma (en modo SIM) de semioquímicos. Los picos identificados son: MCH y verbenona (1:10). N=3.

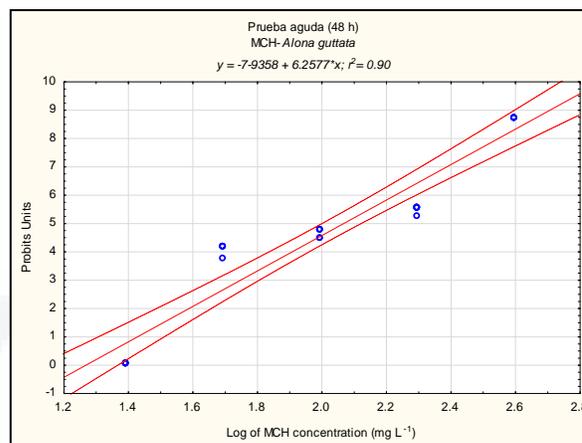
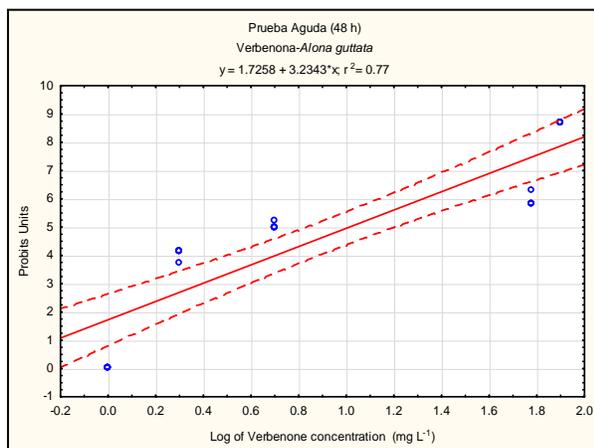
### 6.3 Ensayos de toxicidad letal (48 h) en los organismos acuáticos

Las figuras 3 y 4 muestran las gráficas de los valores de  $CL_{50}$  reales de piretroides y semioquímicos. Las curvas presentan buena linealidad con coeficientes de correlación que van de 0.81 hasta 0.95. Para el rotífero *Lecane papuana*, el orden de toxicidad decreciente fue: BF > DM > CM > VB > MCH, que fue el mismo orden para el cladóceros *Alona guttata* para los valores de  $LC_{50}$  y  $LC_{10}$ . La BF fue 5.4 veces más tóxica que la DM, pero 2,955 veces más tóxica que la CM para el rotífero. Sin embargo, BF es sólo 1.12 veces más tóxico que DM y 1.79 veces más tóxico que CM para el cladóceros. Para ambas especies el piretroide menos tóxico fue el CM, siendo 5.49 veces más tóxico para el cladóceros que para el rotífero (Tabla 6). En cuanto a los semioquímicos, el VB fue el más tóxico de los dos semioquímicos evaluados, siendo 24.76 veces más tóxico para el cladóceros que para el rotífero. MCH fue menos tóxico para ambas especies, y fue 6.5 veces más tóxico para el cladóceros que para el rotífero (Tabla 6). El análisis de la toxicidad entre los piretroides y los semioquímicos analizados en este trabajo demostró que los piretroides son más tóxicos que los semioquímicos. BF, el piretroide más tóxico para ambas especies, es 38,885 veces más tóxico que MCH (el semioquímico menos tóxico para ambas especies) en *L. papuana*, y 17,474 veces más tóxico para *A. guttata*. En cuanto a las pruebas crónicas (inhibición del crecimiento) (Tabla 7), BF fue nuevamente el compuesto más tóxico para *L. papuana*, mientras que DM fue el compuesto más tóxico para *A. guttata*.

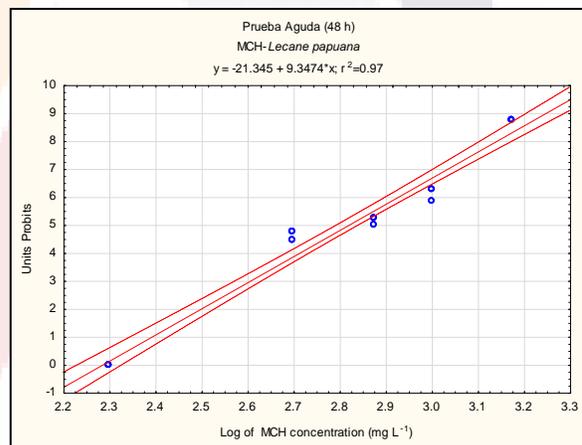
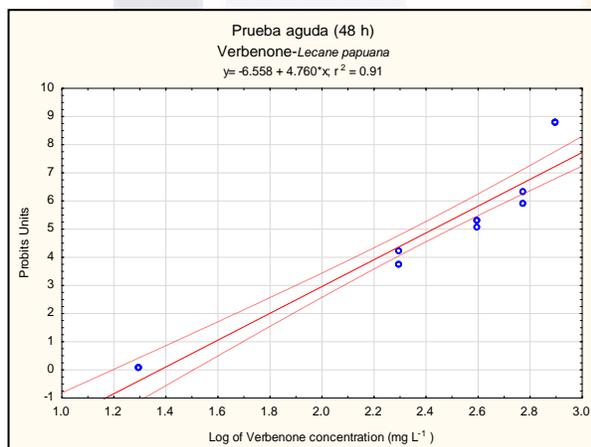


**Figura 3.** Gráficos de la toxicidad aguda de 48 h con concentraciones reales obtenidas mediante el método de GC/MS-SPME de insecticidas piretroides en muestras de EPA frente *Alona guttata* y *Lecane papuana*.

a)



b)



**Figura 4.** Gráficos de la toxicidad aguda en medio EPA a) *Alona guttata* expuesta a verbenona y MCH, respectivamente y b) *Lecane papuana* expuesta a verbenona y MCH obtenidas mediante el método de GC/MS-SPME.

**Tabla 6.** Toxicidad letal (48 h) de los diferentes insecticidas y semioquímicos sobre las dos especies de zooplancton evaluadas.

Especie	Insecticida/ semioquímico	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	CL <sub>10</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>	LOEC (mg L <sup>-1</sup> )	NOEC (mg L <sup>-1</sup> )	Ecuación
<i>Lecane papuana</i>	Cipermetrina	60.36	42.34	0.86	34.16	<34.16	y=-7.68 + 7.18x
	Bifentrina	20.15 x10 <sup>-3</sup>	8.46 x10 <sup>-3</sup>	0.91	4.96 x10 <sup>-3</sup>	<4.96 x10 <sup>-3</sup>	y= 0.964 + 3.098x
	Deltametrina	0.109	0.053	0.89	0.023	9.4 x10 <sup>-3</sup>	y= 8.497 + 3.764x
	MCH	783.54	562.08	0.95	536.5	268.25	y=-24.834 + 10.406x
	Verbenona	296.14	175.46	0.91	22.32	223.2	y=-6.785 + 4.760x
<i>Alona guttata</i>	Cipermetrina	10.99 x10 <sup>-3</sup>	6.41 x10 <sup>-3</sup>	0.84	4.95 x10 <sup>-3</sup>	<4.95 x10 <sup>-3</sup>	y= 0.149 + 4.627x
	Bifentrina	6.13 x10 <sup>-3</sup>	3.79 x10 <sup>-3</sup>	0.81	0.95 x10 <sup>-3</sup>	<0.950 x10 <sup>-3</sup>	y= 1.034 + 4.983x
	Deltametrina	6.91 x10 <sup>-3</sup>	2.24 x10 <sup>-4</sup>	0.87	5.85 x10 <sup>-5</sup>	1.17 x10 <sup>-5</sup>	y= -1.5 + 2.265x
	MCH	120.75	81.45	0.90	52.5	26.25	y= -8.068 + 6.257x
	Verbenona	11.96	6.06	0.82	2.35	1.17	y=0.972 + 3.563x

NOEC= Concentración de efecto no observado, LOEC= Concentración más baja donde se observa efecto, r<sup>2</sup>= Coeficiente de determinación para estos resultados.  
 LC 95% = Límites de confianza al 95%. N=5.

**Tabla 7.** Análisis de toxicidad de la tasa de crecimiento intrínseco (r) entre dos especies de zooplancton expuestas a piretroides y semioquímicos.

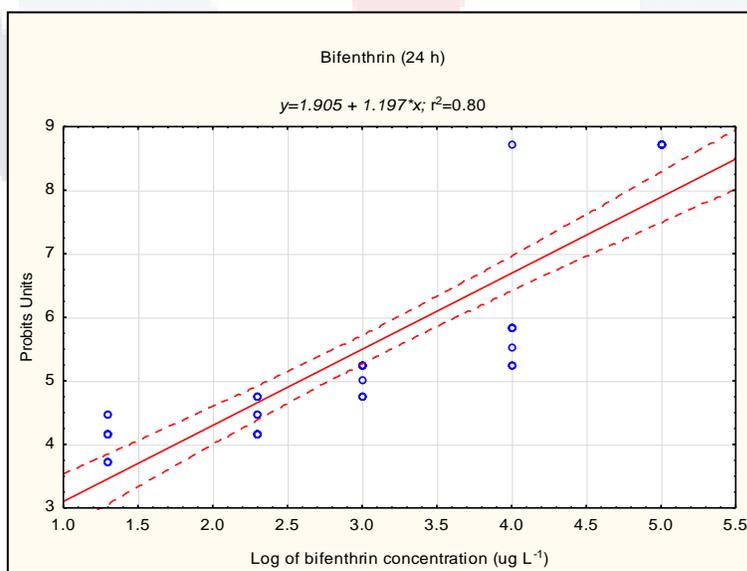
<b>Especie</b>	<b>Insecticida/ Semioquímico</b>	<b>CE<sub>50</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LC95% (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>CE<sub>10</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>LOEC (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>NOEC (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Ecuación</b>
<i>Lecane papuana</i>	Cipermetrina	6.628	5.43 - 7.81	0.479	0.98	5.89 x10 <sup>-2</sup>	<5.89 x10 <sup>-2</sup>	y=0.379-0.026x
	Bifentrina	7.48 x10 <sup>-3</sup>	4.55 x10 <sup>-3</sup> - 10.42 x10 <sup>-3</sup>	1.257 x10 <sup>-3</sup>	0.90	1.99 x10 <sup>-5</sup>	<1.99 x10 <sup>-3</sup>	y= 0.433-0.025x
	Deltametrina	0.0338	0.019 - 0.058	0.147 x10 <sup>-2</sup>	0.81	1.02 x10 <sup>-4</sup>	<1.02 x10 <sup>-4</sup>	y= 0.263-0.048x
	MCH	261.38	42.92 - 479.84	87.85	0.66	8.410	0.840	y=0.515-0.0007x
	Verbenona	39.54	24.74 - 54.35	0.190	0.90	3.30 x10 <sup>-1</sup>	<3.30 x10 <sup>-1</sup>	y=0.401-0.004x
<i>Alona guttata</i>	Cipermetrina	2.69 x10 <sup>-3</sup>	0.96 x10 <sup>-3</sup> - 4.42 x10 <sup>-3</sup>	3.47 x10 <sup>-4</sup>	0.78	1.08 x10 <sup>-4</sup>	1.08 x10 <sup>-5</sup>	y= 0.156-0.021x
	Bifentrina	2.87 x10 <sup>-3</sup>	0.05 x10 <sup>-3</sup> - 5.75 x10 <sup>-3</sup>	7.09x10 <sup>-4</sup>	0.67	5.76 x10 <sup>-7</sup>	<5.76 x10 <sup>-7</sup>	y= 0.173-0.020x
	Deltametrina	2.47 x10 <sup>-3</sup>	1.408 x10 <sup>-3</sup> - 3.53 x10 <sup>-3</sup>	4.91 x10 <sup>-4</sup>	0.88	8.08 x10 <sup>-6</sup>	<8.08 x10 <sup>-6</sup>	y= 0.152-0.027x
	MCH	28.59	9.02 - 90.55	0.298	0.85	1.351	13.51 x10 <sup>-2</sup>	y= 0.088-0.021x
	Verbenona	3.563	1.826 - 5.301	0.695	0.96	25.35 x10 <sup>-2</sup>	12.67 x10 <sup>-2</sup>	y=0.117-0.014x

NOEC = Concentración de no efecto observado, LOEC = Concentración de efecto observada más baja, r<sup>2</sup> = Coeficiente de determinación para estos resultados. CL 95% = Límites de confianza al 95%. N=5.

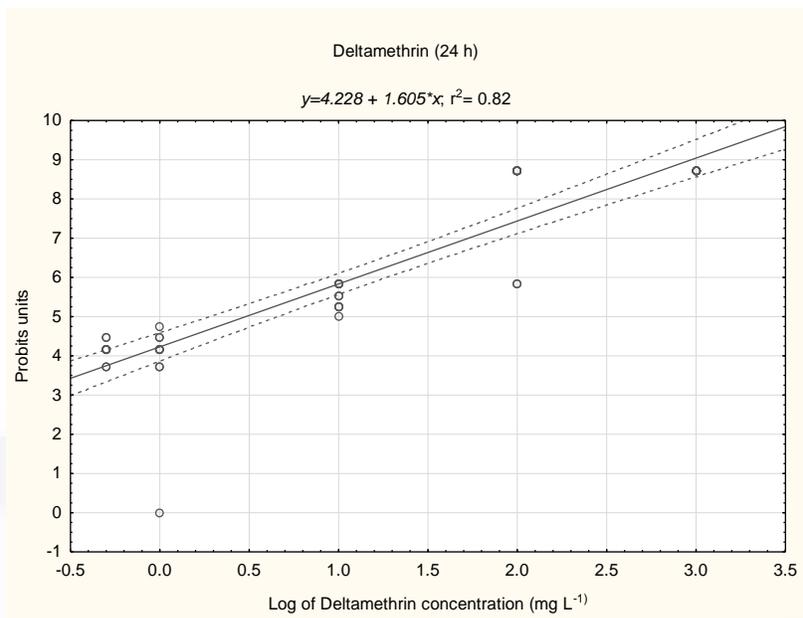
#### 6.4 Pruebas de toxicidad letal (24 h) en el insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus*

En las pruebas de toxicidad letal por aplicación tópica, el insecticida que presentó una toxicidad mayor fue la bifentrina ya que presenta el  $CL_{50}$  más bajo de los tres insecticidas evaluados, seguido por deltametrina y por último cipermetrina, presentando diferencia significativa entre las dosis letales. En el método de aplicación tópica (Figuras 5, 6 y 7), la bifentrina fue 8 veces más tóxica que deltametrina y 14.9 veces más tóxica que cipermetrina. Sin embargo, las dosis letales de los insecticidas en las pruebas de aplicación en la corteza (Figuras 8, 9 y 10), el insecticida que presentó mayor toxicidad fue cipermetrina, seguido por bifentrina y por último deltametrina, donde cipermetrina fue 2.5 veces más tóxico que bifentrina y 4.6 veces más tóxico que deltametrina, presentando diferencia significativa entre las dosis letales (Tabla 8).

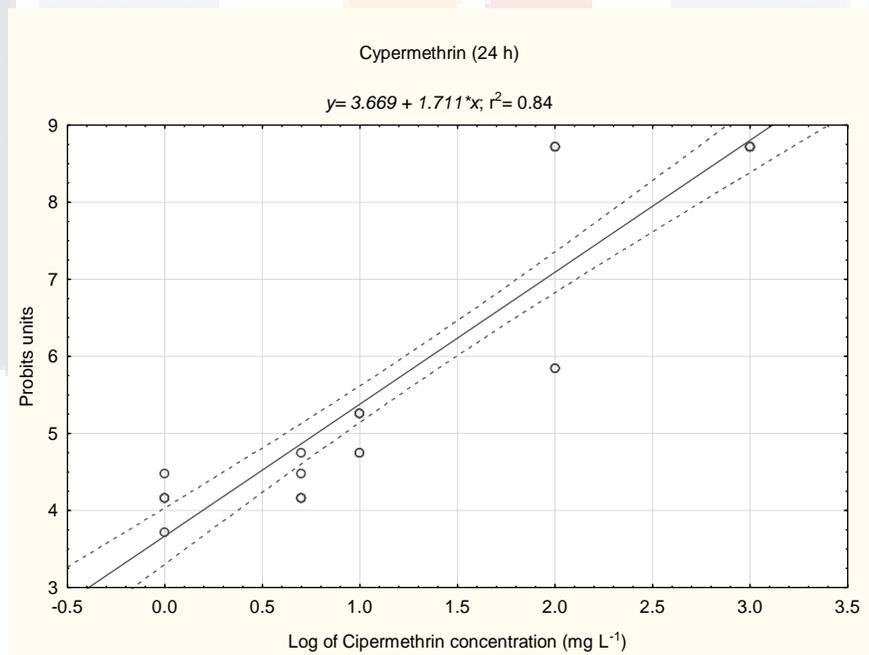
Con respecto a las dosis letales donde mueren el 99% de los insectos ( $CL_{99}$ ) mediante el método de aplicación tópica, se observó que bifentrina fue 2.2 veces más tóxico que deltametrina y 3.4 veces más tóxico que cipermetrina y por el método de aplicación en corteza, el piretroide cipermetrina fue 7.2 veces más tóxica que bifentrina y 10.5 veces más tóxica que deltametrina para el insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* (Tabla 8).



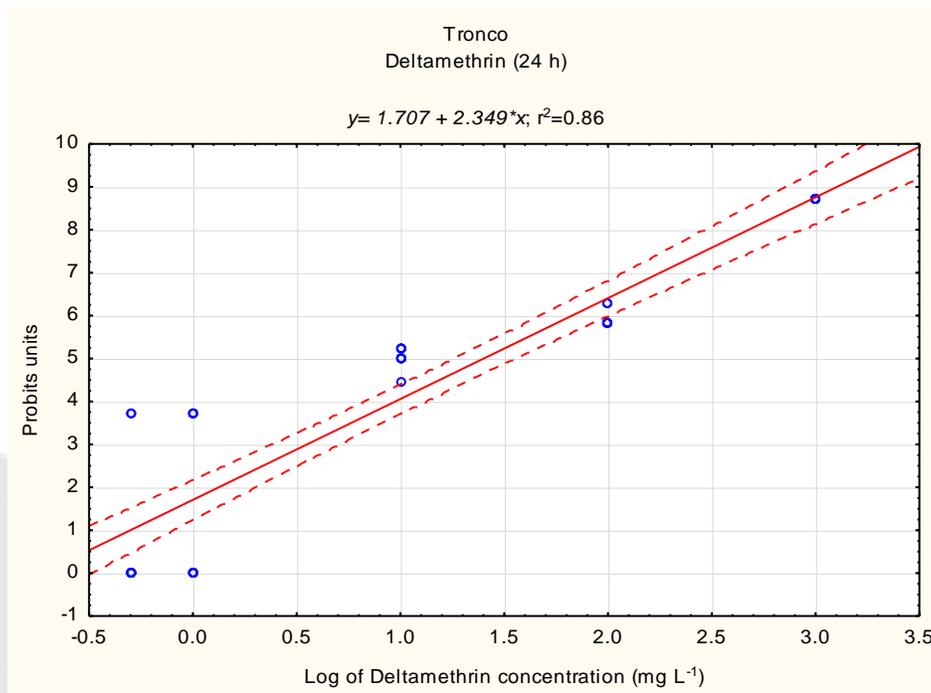
**Figura 5.** Gráfica del efecto del plaguicida bifentrina frente *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación tópica.



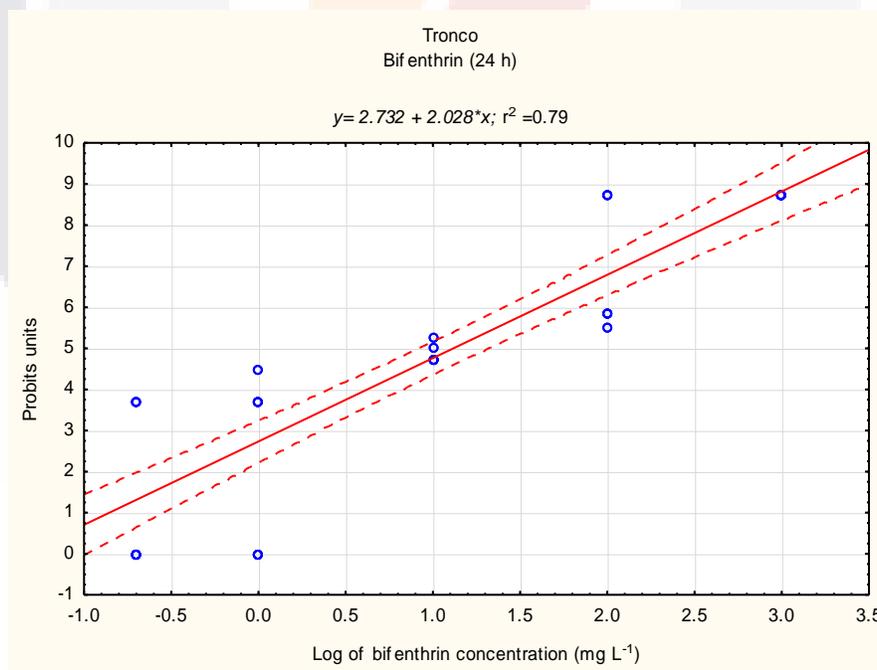
**Figura 6.** Gráfica del efecto del plaguicida deltametrina frente *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación tópica.



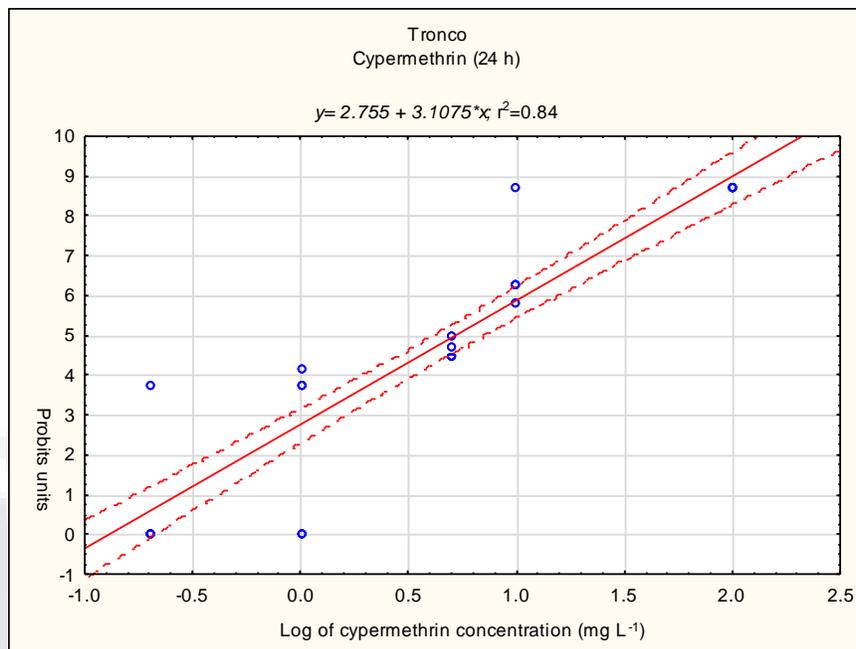
**Figura 7.** Gráfica del efecto del plaguicida cipermetrina frente *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación tópica.



**Figura 8.** Gráfica del efecto del plaguicida deltametrina frente a *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación en la corteza.



**Figura 9.** Gráfica del efecto del plaguicida bifentrina frente a *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación en la corteza.



**Figura 10.** Gráfica del efecto del plaguicida cipermetrina frente a *Dendroctonus mexicanus* expuesto mediante el método de aplicación en la corteza.

**Tabla 8.** Comparaciones de las dosis letales (24 h) de los tres plaguicidas piretroides frente a *D. mexicanus* por los métodos de aplicación tópica y corteza.

Tipo	Insecticida	CL <sub>50</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	LC 95%	CL <sub>99</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	LC 95%	r <sup>2</sup>	Ecuación
Tópica	Bifentrina	0.494a	0.327 – 0.749	146.89a	66.33 - 325.01	0.80	$y = 1.905 + 1.197 * x$
	Deltametrina	3.956b	2.691 – 5.814	319.15b	184.50 - 551.31	0.82	$y = 4.228 + 1.605 * x$
	Cipermetrina	7.338c	5.385 – 10.00	499.17c	308.17 - 806.45	0.84	$y = 3.669 + 1.711 * x$
Corteza	Bifentrina	12.757b	8.45 – 19.142	361.40b	188.06 - 695.34	0.80	$y = 2.732 + 2.028 * x$
	Deltametrina	23.126c	16.85 – 31.72	527.22c	310.24 - 895.98	0.86	$y = 1.707 + 2.349 * x$
	Cipermetrina	5.037a	3.922 – 6.466	50.292a	33.35 - 75.85	0.84	$y = 2.755 + 3.107 * x$

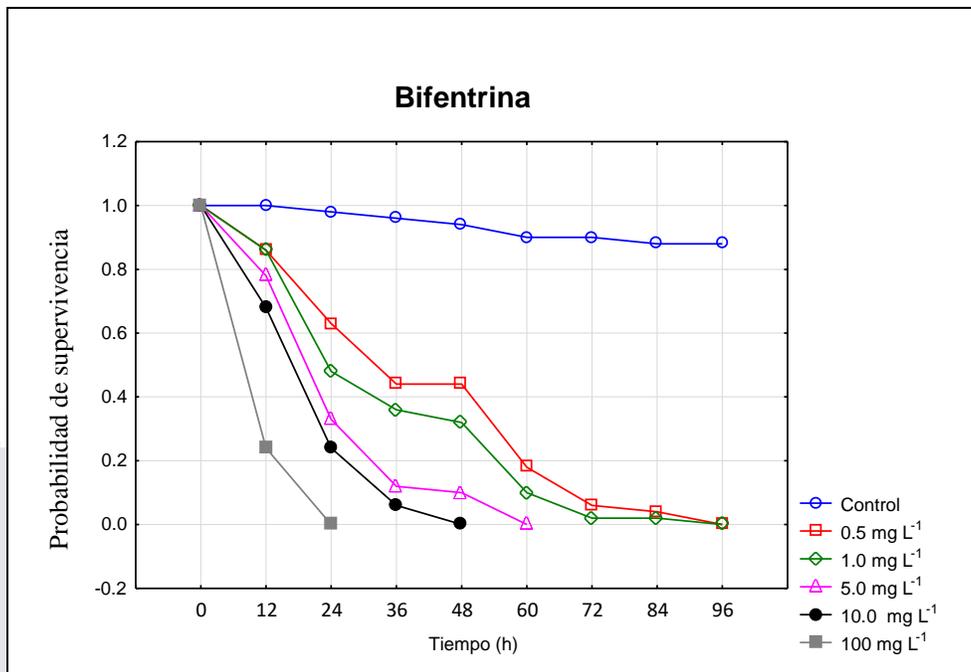
Las estimaciones de CL<sub>50</sub> seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes a  $\alpha = 0.05$  entre los valores de CL<sub>50</sub> expuestos a los tres insecticidas. N=10.

## 6.5 Pruebas de supervivencia

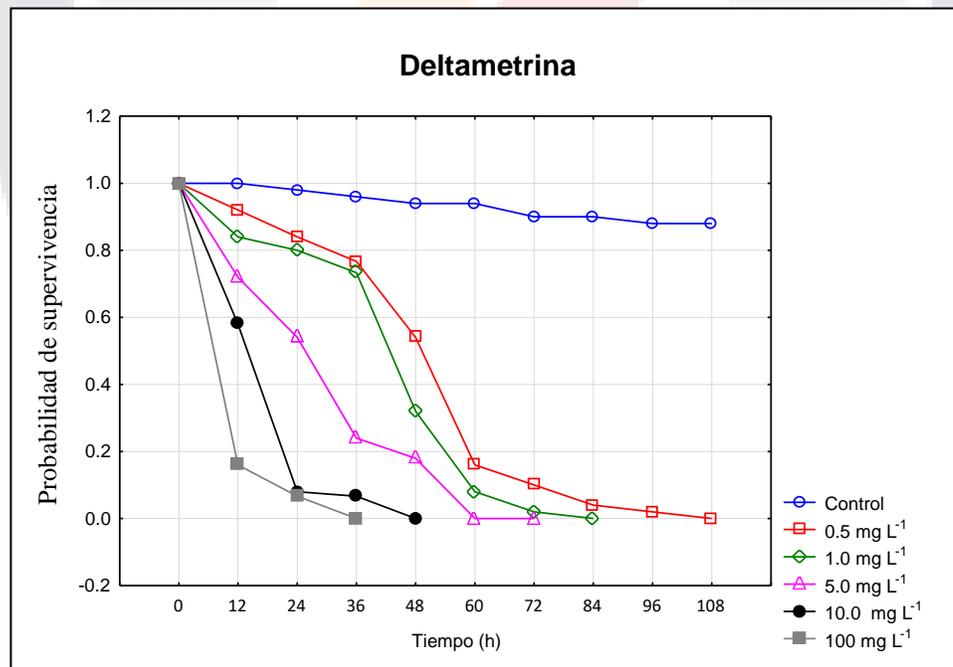
### 6.5.1 Probabilidad de supervivencia

En comparación con el control no tratado, *D. mexicanus* expuesto a todas las dosis tratadas, tanto en el ensayo tópico como en el ensayo de aplicación en la corteza, tuvo una probabilidad de supervivencia significativamente menor. En el ensayo de aplicación tópica la probabilidad de supervivencia de *D. mexicanus* expuesto a 100 mg L<sup>-1</sup> de bifentrina (dosis más alta evaluada) fue >24% a las 12 h, después de doce horas la probabilidad fue del 0% (Figura 11). Sin embargo, la supervivencia de deltametrina a las 12 h fue de 16%, después de 12 h disminuyó hasta 6% de supervivencia (Figura 12). Con respecto a la cipermetrina, la supervivencia a las 12 h a la misma concentración (100 mg L<sup>-1</sup>) fue del 60% y 12 h después disminuyó hasta el 13% (Figura 13), por lo que se observa que la bifentrina presenta mayor toxicidad al matar a la totalidad de los insectos en un tiempo menor. Estos resultados no coincidieron con los resultados de los ensayos de aplicación en la corteza ya que el insecticida que presenta menor probabilidad de supervivencia a las 12 h fue cipermetrina con un 12% (Figura 16), seguido por deltametrina (Figura 15) y por último por bifentrina con un 46 y 63%, respectivamente (Figura 14).

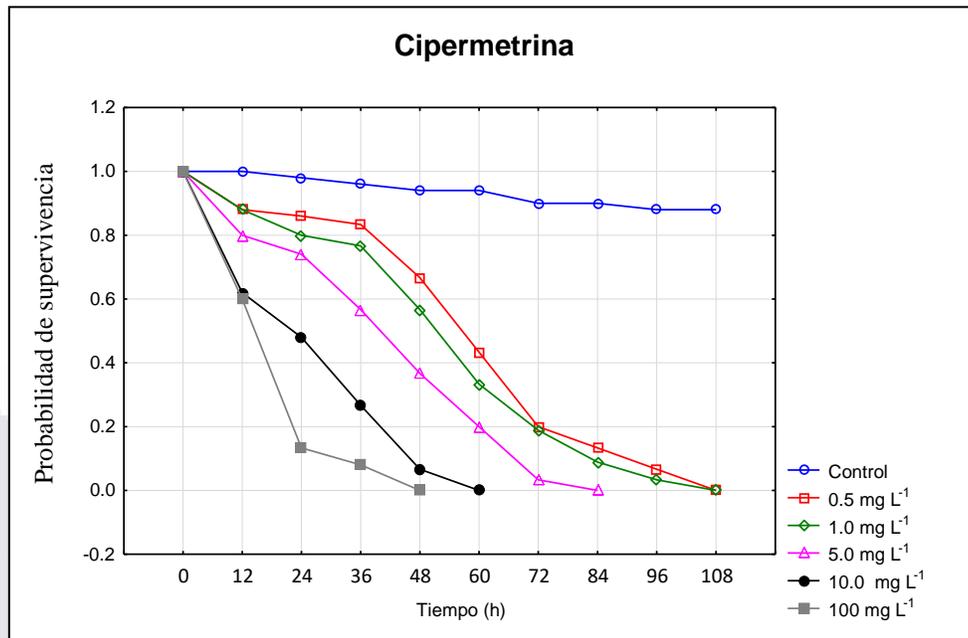
En otras palabras, en cuanto al ensayo tópico, se observó que la bifentrina fue el insecticida que mató a los insectos más rápidamente (24 h) seguido por la deltametrina quien mató al 100 % de los insectos a las 36 horas y por último la cipermetrina quien tardó 48 h en matar al 100% de los insectos evaluados (Figuras 11,12 y 13) a la dosis más alta evaluada para este ensayo (100 mg L<sup>-1</sup>). En cuanto al ensayo de aplicación en corteza, el insecticida que tardó menor tiempo en matar al 100% de los insectos descortezadores fue la cipermetrina que tardó 24 h, esto a una dosis de 100 mg L<sup>-1</sup>, seguido por deltametrina y por último bifentrina, donde el 100% de los insectos murieron a las 36 y 48 h, respectivamente (Figuras 14, 15 y 16).



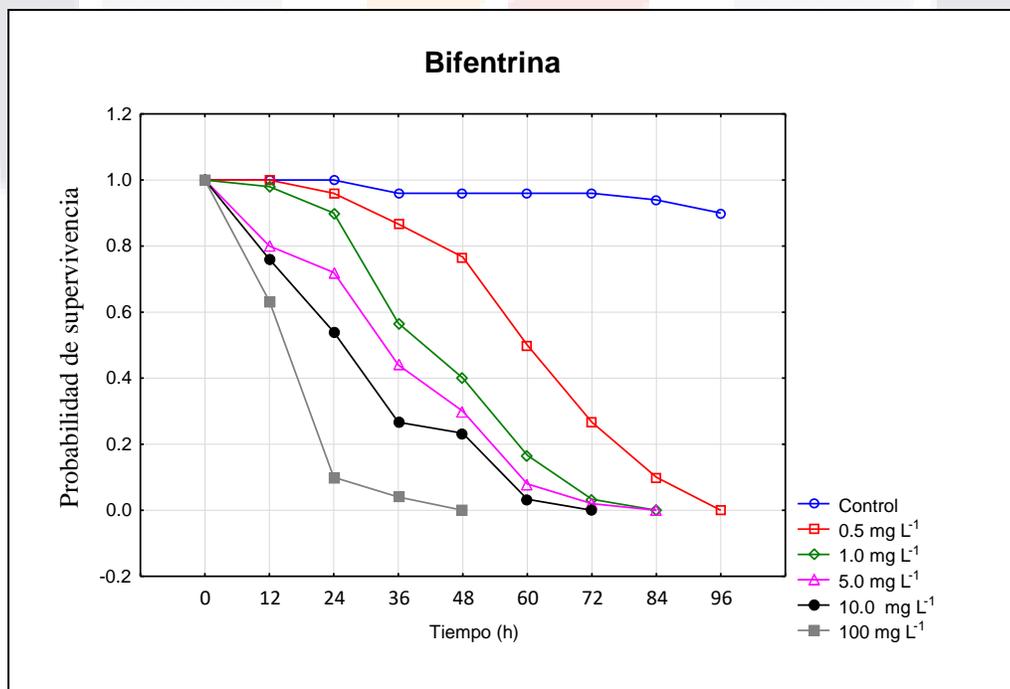
**Figura 11.** Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesto al insecticida bifentrina en un ensayo de aplicación tópica. N=10.



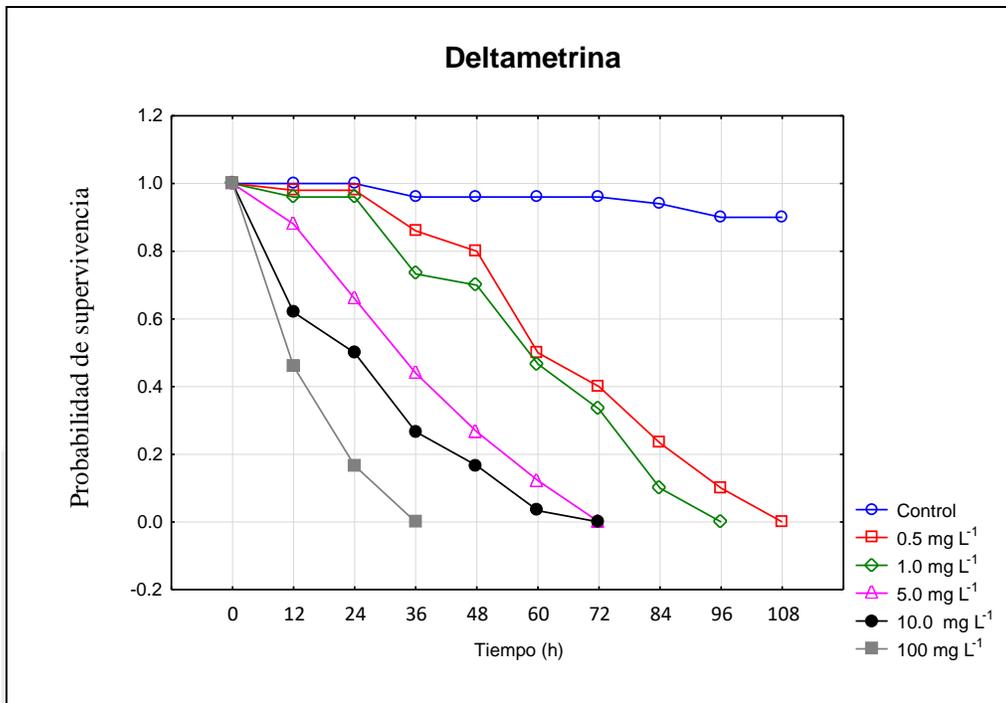
**Figura 12.** Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesto al insecticida deltametrina en un ensayo de aplicación tópica. N=10.



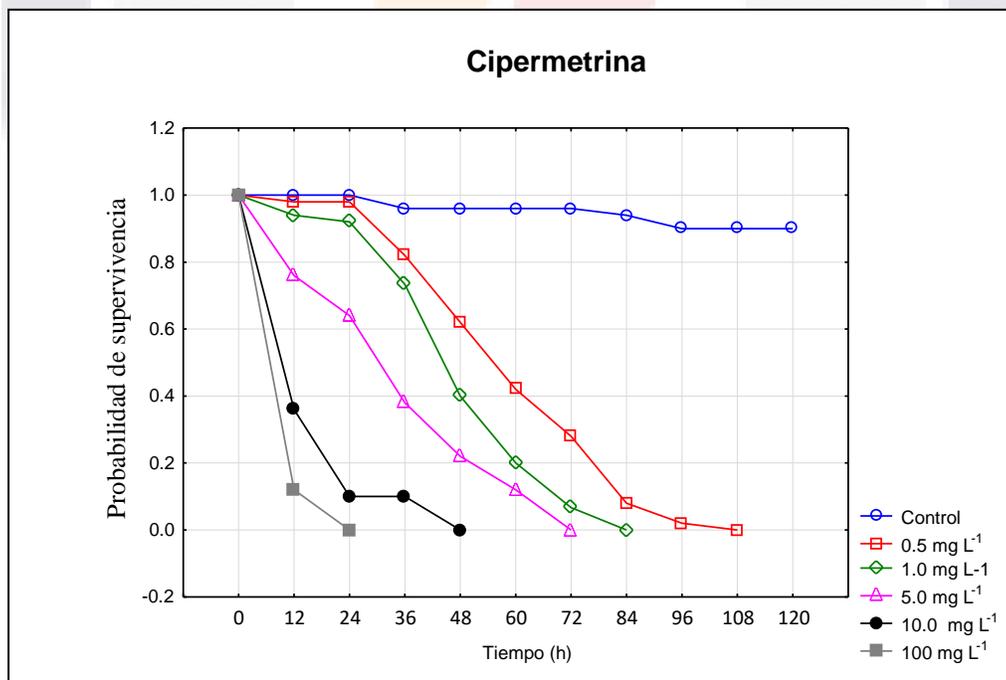
**Figura 13.** Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida cipermetrina mediante un ensayo de aplicación tópica. N=10.



**Figura 14.** Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida bifentrina mediante un ensayo de aplicación en la corteza. N=10.



**Figura 15.** Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida deltametrina mediante un ensayo de aplicación en la corteza. N=10.



**Figura 16.** Curva de supervivencia de *Dendroctonus mexicanus* expuesta al insecticida cipermetrina mediante el ensayo de aplicación en la corteza. N=10.

### 6.5.2 Expectativa de vida media

Mediante la determinación de la expectativa de vida comparamos la efectividad de los tres insecticidas piretroides y observamos que el tiempo de vida de los insectos depende de la dosis y de la forma de aplicación (Tabla 9). En el método de aplicación tópica, los insecticidas bifentrina y deltametrina no presentaron diferencia significativa entre ellos, los cuales presentaron mayor toxicidad a las dosis más altas evaluadas (100 y 1000 mg L<sup>-1</sup>). En cuanto al método de aplicación en la corteza, la cipermetrina presentó la mayor toxicidad, presentando diferencia significativa en todas las dosis evaluadas (Tabla 9).

**Tabla 9.** Expectativa de vida media (días) de *D. mexicanus* comparando los tres diferentes insecticidas piretroides a cinco concentraciones diferentes.

	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Aplicación		X <sup>2</sup>	p
		Tópica	Corteza		
<b>Bifentrina</b>	<b>Control</b>	3.97	3.97		
	<b>0.5</b>	1.31 <sup>a</sup>	2.06ab	58.33	p=0.00106
	<b>1</b>	1.11 <sup>a</sup>	1.47 <sup>a</sup>	11.35	p=0.00076
	<b>5</b>	0.76 <sup>a</sup>	1.19 <sup>a</sup>	9.85	p=0.00170
	<b>10</b>	0.61b	0.97c	13.89	p=0.00019
	<b>100</b>	0.30 <sup>a</sup>	0.53c	28.40	p=0.01274
	<b>1000</b>	0.02 <sup>a</sup>	0.26b	21.35	p=0.00056
<b>Deltametrina</b>	<b>0.5</b>	1.62b	2.23b	18.37	p=0.00012
	<b>1</b>	1.37b	1.98b	21.88	p=0.00002
	<b>5</b>	0.91 <sup>a</sup>	1.95b	26.07	p=0.00012
	<b>10</b>	0.51 <sup>a</sup>	0.87b	44.93	p=0.00009
	<b>100</b>	0.30 <sup>a</sup>	0.47b	18.98	p=0.00001
	<b>1000</b>	0.02 <sup>a</sup>	0.32c	35.36	p=0.00013
<b>Cipermetrina</b>	<b>0.5</b>	1.91c	1.96 <sup>a</sup>	15.36	p=0.01135
	<b>1</b>	1.73c	1.56 <sup>a</sup>	34.78	p=0.00001
	<b>5</b>	1.33b	1.09 <sup>a</sup>	32.46	p=0.00001
	<b>10</b>	0.80c	0.44 <sup>a</sup>	27.08	p=0.00001
	<b>100</b>	0.54b	0.25 <sup>a</sup>	23.47	p=0.00007
	<b>1000</b>	0.38b	0.02 <sup>a</sup>	55.36	p=0.00000

Los valores dentro de la misma columna y tipo de aplicación seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes entre los tratamientos establecidos por ANOVA de una vía y la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). N = 10.

## 6.6 Bioacumulación

### 6.6.1 Bioacumulación en los organismos acuáticos

Cuando comparamos las cargas corporales ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de las dos concentraciones analizadas, se determinó que las cargas corporales aumentaron en todos los compuestos analizados a medida que aumentaba la concentración de exposición (Tablas 10 y 11). El compuesto que mostró la mayor diferencia entre las concentraciones acumuladas fue verbenona (Tablas 10 y 11). Cipermetrina fue el piretroide con el factor de bioacumulación (BCF) más alto, 2001.2 veces más alto que el BCF de MCH (el compuesto con el BCF más bajo); sorprendentemente, los tres piretroides tienen BCF 2.25 veces más altos en concentraciones bajas que los BCF obtenidos en concentraciones altas. Los piretroides mostraron valores altos de BCF (deltametrina con el más alto y cipermetrina fue el más bajo) mientras que los semioquímicos mostraron valores de BCF bajos (MCH fue el más bajo) (Tablas 10 y 11). Según los criterios de los acuerdos de Canadá y Estocolmo (CS, 2008), los productos químicos orgánicos con  $\log K_{OW}$  entre 3.7 y 8.2 o  $\text{BCF} \geq 5000$ , son potencialmente acumulables. Por tanto, los semioquímicos no se bioacumularían en las especies ensayadas, y los tres piretroides (bifentrina, cipermetrina y deltametrina) a bajas concentraciones (como los utilizados en este trabajo) se bioacumularían en el cladóceros *Alona guttata*. Nuestros resultados indican que esta bioacumulación depende de la concentración de exposición de cada plaguicida piretroide debido al potencial de cada organismo para regular la concentración interna de cada contaminante (Du *et al.*, 2013; Tu *et al.*, 2014).

Los piretroides tienen  $\log K_{ow} > 4$  que corresponde a compuestos con alta hidrofobicidad, baja solubilidad en agua, alta capacidad de absorción ( $K_{oc}$ ) en el suelo y alta capacidad de bioacumulación (Katagi, 2011). Esperábamos que bifentrina tuviera los valores de BCF más altos debido a su alto valor de  $K_{ow}$ , sin embargo, cipermetrina presentó valores más altos de BCF en *A. guttata* (Tabla 11), y con cargas corporales letales (LBB) más altas en *L. papuana* (Tabla 10). Los valores de LBB de deltametrina tanto en concentraciones altas como bajas para *A. guttata* (Tabla 11) son los valores más bajos de LBB y muestran cómo una concentración tan baja de deltametrina puede matar a la mitad de la población con una combinación de acumulación/efecto letal. El LBB de deltametrina es 152 veces mayor que

el de MCH (con los valores de LBB más altos). Bifentrina y deltametrina en *L. papuana* muestran valores de LBB y CBB (carga corporal crónica) muy similares a los observados en *A. guttata*. Por otro lado, *L. papuana* expuesta a cipermetrina tiene valores de LBB aproximadamente 10 veces más altos que los valores de CBB (Tabla 10). Esta diferencia podría estar relacionada con la alta tolerancia que mostró el rotífero para cipermetrina en pruebas crónicas y está relacionada con el valor más alto de la relación aguda a crónica (ACR) de cipermetrina (Tabla 10). El rotífero *L. papuana* también tiene valores altos de LBB y CBB para verbenona y MCH, lo que básicamente significa que los semioquímicos tienen una toxicidad extremadamente baja y requieren cargas corporales muy altas para producir efectos letales o crónicos en el rotífero. En general, el cladócero fue más sensible que el rotífero a todos los compuestos evaluados en este trabajo.

**Tabla 10.** Cargas corporales, BCF, LBB, CBB y ACR del rotífero *Lecane papuana* frente a los diferentes insecticidas y semioquímicos durante la prueba de toxicidad letal de 48 h.

Pesticida/ semioquímico	Concentration (mg L <sup>-1</sup> )		Carga corporal (µg g <sup>-1</sup> )	µg individuo <sup>-1</sup>	BCF	LBB (µg g <sup>-1</sup> dw)	CBBr (µg g <sup>-1</sup> dw)	ACRr
	Nominal	Real						
<b>Bifentrina</b>	<b>l 0.015</b>	0.018±0.003	26.75± 2.21	1.53x10 <sup>-5</sup> ±2.01x10 <sup>-6</sup>	1,486.01	29.87	11.13	2.684
	<b>h 0.3</b>	0.347±0.048	563.99± 11.32	3.23x10 <sup>-4</sup> ±1.34x10 <sup>-5</sup>	1,625.32	32.67	12.17	
<b>Cipermetrina</b>	<b>l 35</b>	35.83±4.607	24,473.78± 67.98	1.40x10 <sup>-2</sup> ±3.45x10 <sup>-3</sup>	683.05	41,229.06	4,521.81	9.118
	<b>h 85</b>	86.12±14.68	47,508.74±87.54	2.72x10 <sup>-2</sup> ±1.11x10 <sup>-3</sup>	551.66	33,298.04	3,651.97	
<b>Deltametrina</b>	<b>l 0.25</b>	0.237±0.003	41.26±3.65	2.36x10 <sup>-5</sup> ±1.02x10 <sup>-6</sup>	174.09	18.98	5.90	3.218
	<b>h 0.75</b>	0.748±0.024	164.51±8.43	9.41x10 <sup>-5</sup> ±4.78x10 <sup>-6</sup>	219.93	23.97	7.45	
<b>Verbenona</b>	<b>l 200</b>	233.64±47.64	21,409.09±125.33	1.22x10 <sup>-2</sup> ±1.02x10 <sup>-3</sup>	91.63	27,136.14	3,623.16	7.490
	<b>h 400</b>	432.42±42.16	128,512.24±476.88	7.35x10 <sup>-2</sup> ±5.32x10 <sup>-3</sup>	297.19	88,010.76	11,751.01	
<b>MCH</b>	<b>l 500</b>	575.2±33.99	294,113.64±678.90	1.68x10 <sup>-1</sup> ±1.26x10 <sup>-2</sup>	511.32	400,642.90	133,649.90	2.998
	<b>h 1,000</b>	1,071.54±113.12	680,157.34±789.11	3.89x10 <sup>-1</sup> ±1.56x10 <sup>-2</sup>	634.75	497,350.06	165,910.30	

BCF = Factor de bioconcentración, LBB = Carga corporal letal (LBB), CBBr = Carga corporal crónica ACR = LC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>. ACRr = Relación aguda a crónica de crecimiento intrínseco. dw = Peso seco. Peso seco de *L. papuana* = 0.572 ± 0.028 µg individuo<sup>-1</sup> (media ± una DE, N = 5). Para todos los demás valores (media ± una DE, N = 2).

**Tabla 11.** Cargas corporales, BCF, LBB, CBB y ACR del cladóceros *Alona guttata* frente a los diferentes insecticidas y semioquímicos evaluados a los 10 d de exposición a dos concentraciones diferentes (baja = CL<sub>50</sub>/5 y alta = CL<sub>50</sub>/2).

Pesticida/ Semioquímico		Concentración en medio EPA (mg L <sup>-1</sup> )	Carga corporal (µg g <sup>-1</sup> )	(µg Individuo <sup>-1</sup> )	BCF	LBB (µg g <sup>-1</sup> ) dw	CBB (µg g <sup>1</sup> ) dw	ACR
<b>Bifentrina</b>	<b>L</b>	1.156x10 <sup>-3</sup> ±1.53x10 <sup>-4</sup>	7.33±0.197	1.51x10 <sup>-5</sup> ±5.74x10 <sup>-7</sup>	6,335.80	38.84	18.18	2.13
	<b>H</b>	2.89x10 <sup>-3</sup> ±3.60x10 <sup>-5</sup>	13.53±0.142	2.78x10 <sup>-5</sup> ±4.13x10 <sup>-7</sup>	4,688.04	28.74	13.45	
<b>Cipermetrina</b>	<b>L</b>	2.17x10 <sup>-3</sup> ±2.11x10 <sup>-5</sup>	20.37±0.424	4.19x10 <sup>-5</sup> ±1.235x10 <sup>-6</sup>	9,385.54	102.30	25.25	4.05
	<b>H</b>	5.43x10 <sup>-3</sup> ±6.11x10 <sup>-4</sup>	22.57±0.221	4.64x10 <sup>-5</sup> ±6.42x10 <sup>-7</sup>	4,158.32	45.33	11.19	
<b>Deltametrina</b>	<b>L</b>	1.63x10 <sup>-3</sup> ±2.63x10 <sup>-5</sup>	8.42±0.268	1.73x10 <sup>-5</sup> ±7.7933x10 <sup>-7</sup>	5,177.63	35.78	12.80	2.79
	<b>H</b>	4.04x10 <sup>-3</sup> ±7.65x10 <sup>-4</sup>	12.63±0.238	2.60x10 <sup>-5</sup> ±6.91x10 <sup>-7</sup>	3,123.21	21.58	7.72	
<b>Verbenona</b>	<b>L</b>	2.533±2.59x10 <sup>-1</sup>	58.05±2.04*	1.19x10 <sup>-4</sup> ±5.938x10 <sup>-6</sup>	22.91	274.06	81.65	3.35
	<b>H</b>	6.34±2.17x10 <sup>-2</sup>	363.99±4.96*	7.49x10 <sup>-4</sup> ±1.44x10 <sup>-5</sup>	57.42	686.78	204.60	
<b>MCH</b>	<b>L</b>	27.032±0.467	228.16±5.52	4.70x10 <sup>-4</sup> ±1.6052x10 <sup>-5</sup>	8.44	1,019.13	241.29	4.22
	<b>H</b>	67.580±1.180	301.57±10.41	6.21x10 <sup>-4</sup> ±3.03x10 <sup>-5</sup>	4.69	566.79	134.20	

\* Altamente significativo entre las cargas corporales (µg g<sup>-1</sup>) de baja y alta concentración (p <0.001). dw = Peso seco. Peso seco de *A. guttata* = 2.058 ± 0.151 µg individuo<sup>-1</sup> (media ± una DE, N = 5). L = Concentración baja (CL<sub>50</sub>/5; media ± una DE, N = 2), H = Concentración alta (CL<sub>50</sub>/2; media ± una DE, N = 2), FBC = Factor de bioconcentración, LBB = Carga corporal letal, CBB = Carga corporal crónica, ACR = Relación aguda a crónica.

### 6.6.2 Bioacumulación de piretroides en el insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus*

Como se puede observar en la Tabla 12, las concentraciones bioacumuladas en el cuerpo del insecto son dependientes de la concentración de exposición (a mayor concentración de exposición, mayor cantidad bioacumulada). El insecticida que se bioacumuló en mayor cantidad en el cuerpo del insecto fue deltametrina, seguido por bifentrina; por lo tanto, el insecticida que se bioacumuló en menor cantidad fue cipermetrina, en ambas dosis de exposición (CL<sub>50</sub>/2 y CL<sub>50</sub>/5). Todos los Factores de bioacumulación (BAF's) fueron menores de 100 excepto cipermetrina quien presentó el BAF mayor (127.53); sin embargo, fue cipermetrina el compuesto que presentó LBB más bajo, 1.68 veces más bajo que bifentrina y 3.27 veces más bajo que deltametrina, en las dosis bajas (CL<sub>50</sub>/5) y 1.91 veces más baja que bifentrina y 1.93 veces más baja que deltametrina en las concentraciones de exposición altas (CL<sub>50</sub>/2), lo que nos indica que se requiere menor cantidad de cipermetrina que bifentrina y deltametrina para causar un efecto letal (muerte) en el insecto descortezador *D. mexicanus*.

**Tabla 12.** Bioacumulación en el insecto descortezador *D. mexicanus* expuesto a dos concentraciones subletales de los tres plaguicidas piretroides.

Insecticida		Concentración de exposición (mg L <sup>-1</sup> )		Bioacumulación (µg g <sup>-1</sup> dw)	BAF (µg g <sup>-1</sup> dw)	LBB (µg g <sup>-1</sup> dw)
		Nominal	Real			
<b>Bifentrina</b>	H	6.38	4.935 ± 0.060	293.04 ± 24.58	59.38 ± 0.72	757.48 ± 9.22
	L	2.55	1.901 ± 0.006	182.58 ± 20.35	96.05 ± 0.29	1,225.25 ± 3.65
<b>Deltametrina</b>	H	11.56	9.78 ± 0.037	622.41 ± 42.03	63.64 ± 0.24	1,471.76 ± 5.53
	L	4.62	4.708 ± 0.258	253.14 ± 39.89	53.84 ± 2.95	1,245.16 ± 68.25
<b>Cipermetrina</b>	H	2.52	2.054 ± 0.096	183.09 ± 9.49	89.23 ± 4.18	449.47 ± 21.04
	L	1.007	1.017 ± 0.159	128.18 ± 1.72	127.53 ± 19.94	642.39 ± 90.45

BAF= Factor de Bioacumulación, LBB= Carga corporal letal, dw= Peso seco. L= Concentración baja (CL<sub>50</sub>/5; media ± SD, N = 2), H= Concentración alta (CL<sub>50</sub>/2; media ± DE, N = 2), Para todos los demás valores (media ± SD, N = 2).

## 6.7 Tasas de degradación de piretroides y semioquímicos

Como se muestra en las Tablas 13 y 14, las tasas de degradación de piretroides y semioquímicos en el agua varían con la concentración de exposición y con la presencia de los organismos acuáticos. En el caso de *L. papuana* a alta concentración, la deltametrina disminuyó 77.13% en presencia del rotífero mientras que en su ausencia, la degradación de deltametrina fue sólo del 9.96% a alta concentración y 84.18% y 12.58% respectivamente a baja concentración (Tabla 13); es decir, la deltametrina necesita 10 y 13 días para reducir a la mitad su concentración inicial en ausencia de rotíferos, pero solo 0.75 y 0.94 días en presencia de *L. papuana*.

La misma tendencia se observa con piretroides y semioquímicos en presencia de *A. guttata*. En presencia del cladóceros, la concentración de bifentrina disminuyó un 67.1%, pero en su ausencia sólo un 9.29% a alta concentración y un 72% y 6.39% a baja concentración. En otras palabras, bifentrina necesita 14 y 21 días para reducir a la mitad su concentración inicial en ausencia del cladóceros, pero solo 1.2 y 1.0 días en presencia de *A. guttata* (Tabla 14).

## 6.8 Parámetros toxicocinéticos

Los valores de  $k_1$  y  $k_2$  se calcularon mediante regresión no lineal (Tabla 15). Las líneas ajustadas de la ecuación de absorción de la cinética de absorción se muestran en la Figuras 18 y 19 para las concentraciones bajas y altas en *A. guttata*. En ambos casos, el coeficiente de determinación fue superior a 0.92, lo que indica que la absorción y excreción están bien descritas por la cinética de primer orden en el caso de los piretroides. Para los semioquímicos, los coeficientes de correlación muestran que las concentraciones en el cuerpo del cladóceros no aumentan con el tiempo, mostrando una línea casi recta (Figuras 17 y 18). Un ANOVA indicó que no existe diferencia significativa entre las concentraciones de semioquímicos con respecto al tiempo, lo que significa que tanto verbenona como MCH alcanzaron la fase estacionaria antes de las 48 h, por lo que no se alcanzó la curva de absorción. Por lo tanto, los semioquímicos alcanzaron la fase estacionaria en 48 horas y los piretroides después de siete días en *A. guttata*.

Los resultados del análisis toxicocinético mostraron que la excreción ( $k_2$ ) fue más rápida cuando el cladóceros fue expuesto a concentraciones altas que a concentraciones bajas (Tabla 15). En el caso de bifentrina, el 50% se eliminaría del cuerpo de cladóceros dentro de los 36.9 d en baja concentración ( $CL_{50/5}$ ), pero solo tardaría 15.5 d en la concentración alta ( $CL_{50/2}$ ). El mismo comportamiento se observó con los otros piretroides evaluados (Tabla 15).



**Tabla 13.** Tasa de eliminación de los piretroides y semioquímicos evaluados en el rotífero *Lecane papuana* después de 48 h de exposición a dos concentraciones diferentes.

Insecticida/ Semioquímico	Concentración en medio EPA (mg L <sup>-1</sup> )				Reducción (mg L <sup>-1</sup> )		Tasa de depuración			
	Nominal (mg L <sup>-1</sup> )	Inicial (0 h)	Final (48 h)	Final (48 h) Con rotífero	Sin rotífero (reducción %)	Con rotífero (reducción %)	Con rotífero		Sin rotífero	
					k (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)	k (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)		
<b>Verbenona</b>	<b>l 200</b>	233.64±47.64	189.39±3.12	117.39±10.23	44.24 (18.94)	116.251 (49.76)	1.43x10 <sup>-2</sup>	2.01	4.37x10 <sup>-3</sup>	6.60
	<b>h 400</b>	432.42±42.16	397.91±0.313	292.08±18.76	34.51 (7.98)	140.34 (32.45)	8.17x10 <sup>-3</sup>	3.53	3.94x10 <sup>-3</sup>	16.66
<b>MCH</b>	<b>l 500</b>	575.20±33.99	405.96±30.61	261.18±30.83	169.23 (29.42)	314.02 (54.59)	1.64x10 <sup>-2</sup>	1.75	7.26x10 <sup>-3</sup>	3.97
	<b>h 1,000</b>	1,071.54±113.12	680.89±21.71	652.87±48.2	390.65 (36.46)	418.67 (39.07)	1.03x10 <sup>-2</sup>	2.79	9.45x10 <sup>-3</sup>	3.05
<b>Bifentrina</b>	<b>l 0.015</b>	0.018±0.003	9.80x10 <sup>-3</sup> ±2.60x10 <sup>-4</sup>	2.70x10 <sup>-3</sup> ±5.0x10 <sup>-4</sup>	8.2x10 <sup>-3</sup> (45.56)	0.0153 (85.0)	3.95x10 <sup>-2</sup>	0.73	1.27x10 <sup>-2</sup>	2.28
	<b>h 0.3</b>	0.347±0.048	0.158±5.50x10 <sup>-2</sup>	0.0244±2.44x10 <sup>-3</sup>	0.1886 (54.35)	0.3226 (92.97)	5.53x10 <sup>-2</sup>	0.52	1.63x10 <sup>-2</sup>	1.768
<b>Cipermetrina</b>	<b>l 35</b>	35.83±4.607	26.37±4.841	21.83±2.183	9.46 (26.40)	13.999 (39.07)	1.03x10 <sup>-2</sup>	2.79	6.39x10 <sup>-3</sup>	4.52
	<b>h 85</b>	86.12±14.68	58.94±4.292	49.84±5.89	27.17 (31.55)	36.28 (42.13)	1.14x10 <sup>-2</sup>	2.53	7.90x10 <sup>-3</sup>	3.65
<b>Deltametrina</b>	<b>l 0.25</b>	0.237±0.003	2.13x10 <sup>-1</sup> ±15.00x10 <sup>-3</sup>	0.054±1.0x10 <sup>-3</sup>	0.0236 (9.96)	0.1828 (77.13)	3.07x10 <sup>-2</sup>	0.94	2.19x10 <sup>-3</sup>	13.21
	<b>h 0.75</b>	0.748±0.024	6.54x10 <sup>-1</sup> ±1.30x10 <sup>-2</sup>	0.118±2.20x10 <sup>-2</sup>	0.0941 (12.58)	0.6297 (84.18)	3.84x10 <sup>-2</sup>	0.75	2.80x10 <sup>-3</sup>	10.31

N = Nominal, k = Constante de la velocidad de depuración, t<sub>1/2</sub> = Tiempo de vida media, L = Baja concentración, H = Alta concentración. N=3.

**Tabla 14.** Tasa de eliminación de los piretroides y semioquímicos evaluados en el cladócero *Alona guttata* después de 48 h de exposición a dos concentraciones diferentes.

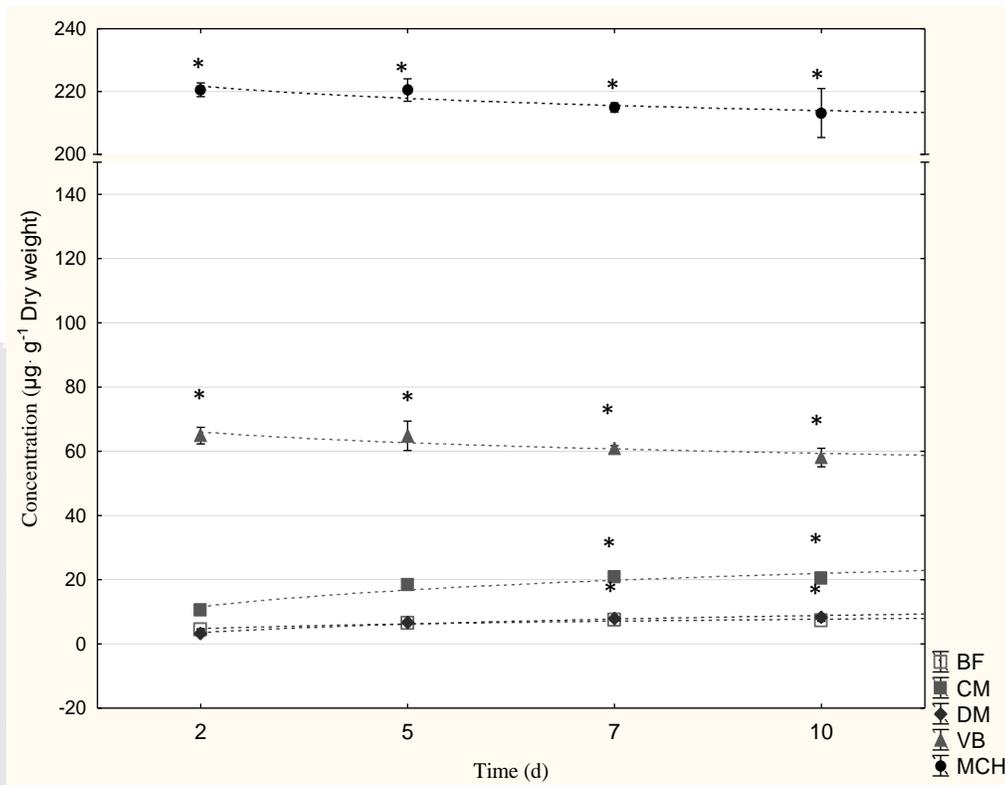
Insecticida/ Semioquímico	Concentración en medio EPA (mg L <sup>-1</sup> )			Reducción		Tasa de depuración				
	N	Inicial (0 h)	Final (48 h) sin cladócero	Final (48 h) con cladócero	Sin cladócero (reducción %)	Con cladócero (reducción %)	Con cladócero		Sin cladócero	
							k (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)	k (d <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (d)
<b>Verbenona</b>	<b>L 1.0</b>	1.395±0.06	1.09±0.0407	0.837±0.14	0.557 (21.36)	0.298 (39.9)	1.06x10 <sup>-2</sup>	2.79	5.01x10 <sup>-3</sup>	5.76
	<b>H 5.0</b>	5.762±0.064	5.16±0.732	4.382±0.22	1.379 (10.33)	0.595 (23.9)	5.70x10 <sup>-3</sup>	5.06	2.23x10 <sup>-3</sup>	12.72
<b>MCH</b>	<b>L 25</b>	26.037±4.79	23.55±2.055	22.86±1.43	3.177 (9.53)	2.482 (12.2)	2.71x10 <sup>-3</sup>	10.65	2.09x10 <sup>-3</sup>	13.83
	<b>H 100</b>	110.141±12.41	99.88±8.457	74.80±8.94	35.337 (9.31)	10.258 (32.0)	8.06x10 <sup>-3</sup>	3.58	2.04x10 <sup>-3</sup>	14.18
<b>Bifentrina</b>	<b>L 0.01</b>	1.40x10 <sup>-2</sup> ±9.90 <sup>-4</sup>	1.27x10 <sup>-2</sup> ±4.33x10 <sup>-4</sup>	4.60x10 <sup>-3</sup> ±4.60x10 <sup>-4</sup>	9.4 x10 <sup>-3</sup> (9.29)	1.30x10 <sup>-3</sup> (67.1)	2.32x10 <sup>-2</sup>	1.24	2.03x10 <sup>-3</sup>	14.22
	<b>H 0.02</b>	2.36x10 <sup>-2</sup> ±1.00x10 <sup>-4</sup>	2.21x10 <sup>-2</sup> ±2.89x10 <sup>-3</sup>	6.60x10 <sup>-3</sup> ±6.50x10 <sup>-3</sup>	0.017 (6.36)	1.50x10 <sup>-3</sup> (72.0)	2.65x10 <sup>-2</sup>	1.08	1.37x10 <sup>-3</sup>	21.11
<b>Cipermetrina</b>	<b>L 0.02</b>	2.62x10 <sup>-2</sup> ±2.80x10 <sup>-4</sup>	1.81x10 <sup>-2</sup> ±4.02x10 <sup>-4</sup>	4.40x10 <sup>-3</sup> ±8.10x10 <sup>-4</sup>	0.0218 (30.92)	8.10x10 <sup>-3</sup> (83.2)	3.72x10 <sup>-2</sup>	0.77	7.71x10 <sup>-3</sup>	3.74
	<b>H 0.03</b>	3.33x10 <sup>-2</sup> ±6.50x10 <sup>-3</sup>	2.18x10 <sup>-2</sup> ±2.89x10 <sup>-3</sup>	7.70x10 <sup>-3</sup> ±1.70x10 <sup>-4</sup>	0.0256 (34.53)	1.15x10 <sup>-2</sup> (76.8)	3.05x10 <sup>-2</sup>	0.94	8.83x10 <sup>-3</sup>	3.27
<b>Deltametrina</b>	<b>L 0.001</b>	1.56x10 <sup>-3</sup> ±8.79x10 <sup>-5</sup>	4.11x10 <sup>-4</sup> ±1.33x10 <sup>-5</sup>	2.20x10 <sup>-4</sup> ±1.77x10 <sup>-5</sup>	13.44x10 <sup>-4</sup> (45.08)	1.16x10 <sup>-3</sup> (85.9)	4.08x10 <sup>-2</sup>	0.70	2.78x10 <sup>-2</sup>	1.04
	<b>H 0.01</b>	1.22x10 <sup>-2</sup> ±7.00x10 <sup>-5</sup>	6.70x10 <sup>-3</sup> ±9.32x10 <sup>-4</sup>	8.00x10 <sup>-4</sup> ±1.40x10 <sup>-4</sup>	0.0114 (73.65)	5.50x10 <sup>-3</sup> (93.4)	5.68x10 <sup>-2</sup>	0.50	1.25x10 <sup>-2</sup>	2.31

N = Nominal, k = Constante de la velocidad de depuración, t<sub>1/2</sub> = Tiempo de vida media, L = Baja concentración, H = Alta concentración. N=3.

**Tabla 15.** Parámetros toxicocinéticos de los insecticidas piretroides y semioquímicos en *Alona guttata* a los 10 d de exposición.

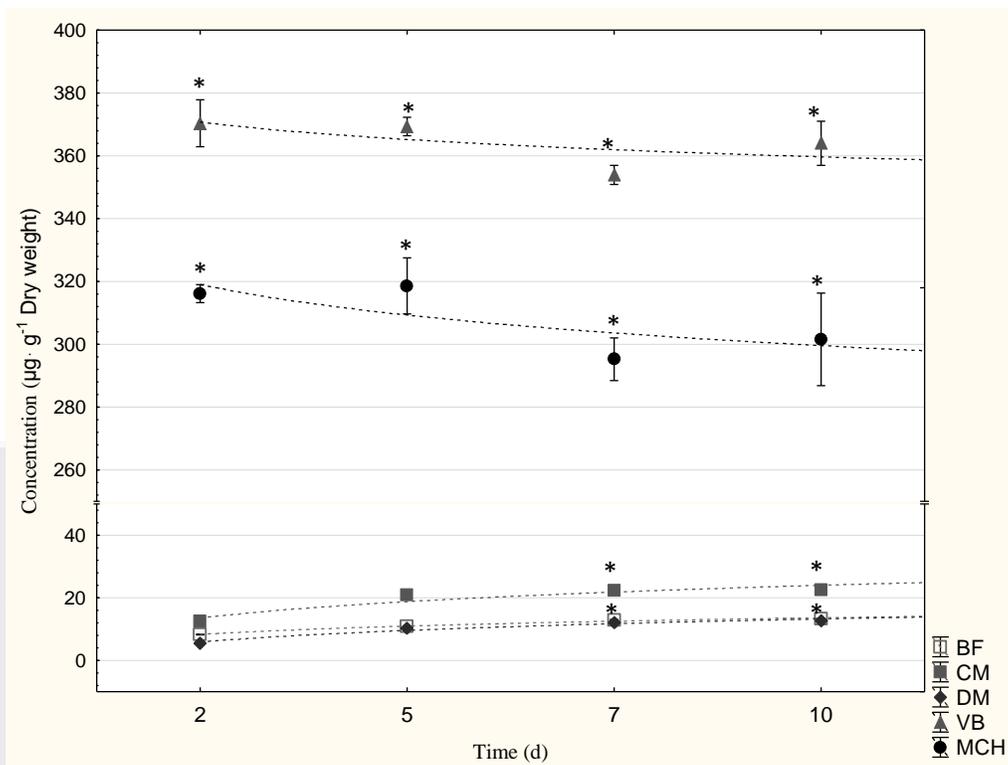
Pesticida/ semioquímico	Concentración baja				Concentración alta			
	$k_1$ (L kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	$k_2$ (h <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (d)	$r^2$	$k_1$ (L kg <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	$k_2$ (h <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$ (d)	$r^2$
<b>Bifentrina</b>	4.95*	7.81x10 <sup>-4</sup>	36.95	0.95	8.81 *	1.88x10 <sup>-3</sup>	15.35	0.97
<b>Cipermetrina</b>	17.26	1.84x10 <sup>-3</sup>	15.69	0.92	17.32	4.17x10 <sup>-3</sup>	6.93	0.92
<b>Deltametrina</b>	8.86*	1.71x10 <sup>-3</sup>	16.86	0.98	12.19*	3.90 x10 <sup>-3</sup>	7.40	0.97
<b>Verbenona</b>	11.05	0.483	1.43	0.70	18.41	0.321	0.09	0.35
<b>MCH</b>	12.93	1.53	0.452	0.09	32.33	6.89	0.004	0.49

$k_1$  = Constante de la tasa de absorción,  $k_2$  = Constante de la tasa de depuración,  $t_{1/2}$  = Tiempo de vida media.  $r^2$  = coeficiente de correlación para determinar  $k_1$ . \*Altamente significativo ( $p < 0.001$ ). N=3.



**Figura 17.** Bioacumulación ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dw) en *Alona guttata* durante la fase de absorción a concentración baja ( $\text{LC}_{50/5}$ ) de piretroides y semioquímicos.  $N = 2$ . Media; Bigote: Media  $\pm$  2 DE.

\* No existe diferencia significativa entre los tratamientos establecidos por ANOVA unidireccional y la prueba de comparación múltiple de Tukey ( $p < 0.05$ ).



**Figura 18.** Bioacumulación ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dw) en *Alona guttata* durante la fase de absorción a concentración alta ( $\text{LC}_{50}/2$ ) de piretroides y semioquímicos.

\* No existe diferencia significativa entre los tratamientos establecidos por ANOVA unidireccional y la prueba de comparación múltiple de Tuckey ( $p < 0.05$ ).

N = 2. Media; Bigote: Media  $\pm$  2 DE.

## 6.9 Residualidad de bifentrina en el medio ambiente

Los porcentajes de recuperación para las muestras de agua, suelo y sedimento fueron de 92.96%, 82.88% y 76.65% respectivamente, con coeficientes de variación de 16.78 - 19.67% ( $n=12$ ). Las concentraciones encontradas de bifentrina en suelo, agua y sedimento se observan en la Figura 19.

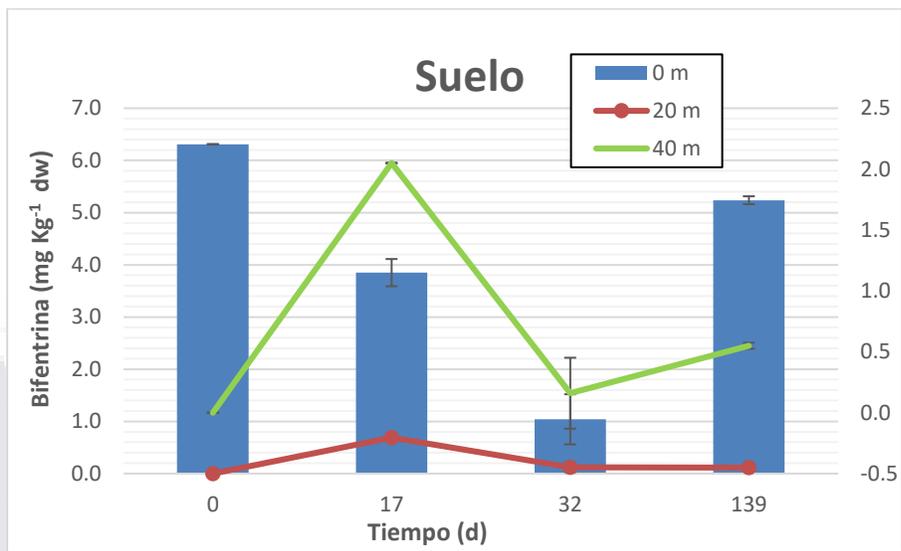
Con respecto a las muestras de suelo, el primer día de muestreo (día de la aplicación) se encontró  $6.31 \text{ mg Kg}^{-1}$  dw (dry weight o peso seco) de bifentrina a los 0 m (suelo debajo del tronco donde se aplicó el insecticida) y 17 días después de la aplicación se encontraron concentraciones de  $3.18 \text{ mg Kg}^{-1}$  dw, una reducción casi de la mitad de la concentración

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

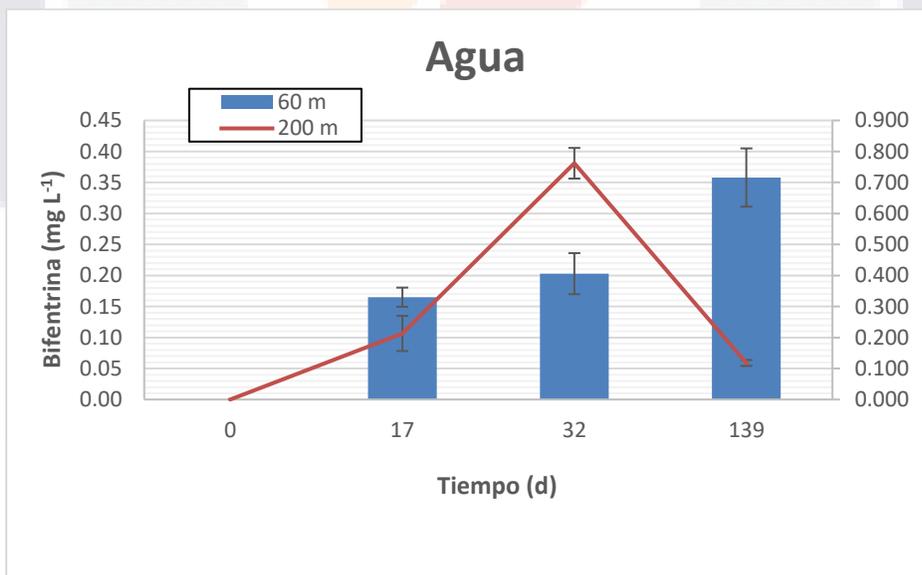
inicial, sin embargo, se encontraron concentraciones de 0.69 y 2.05 mg Kg<sup>-1</sup> dw de bifentrina a los 20 y 40 m de distancia del sitio de aplicación, respectivamente. En la tercer recolecta (32 días de la aplicación) se encontraron concentraciones de 1.04 mg Kg<sup>-1</sup> dw en el sitio de aplicación (0 m), 0.12 y 0.16 mg Kg<sup>-1</sup> dw a 20 y 40 m de distancia, respectivamente, por lo que se observó una reducción de 3 veces la concentración en el sitio de aplicación (0 m), y 3.45 y 12.8 veces la concentración a los 20 y 40 m de distancia, respectivamente. A los 139 días después de la aplicación se encontraron concentraciones de 5.24, 0.111 y 0.549 mg Kg<sup>-1</sup> dw en el suelo, las cuales son 5.03, 0.9 y 3.4 veces más elevado que en la tercer recolecta (107 días antes) (Figura 19).

En cuanto a las cantidades de bifentrina encontradas en el agua del arroyo, en la primer recolecta (17 días después de la aplicación en el tronco y corteza) se encontró 0.165 mg L<sup>-1</sup> a los 60 m y 0.213 mg L<sup>-1</sup> a 200 m de distancia. Quince días después (32 días después de la aplicación) se encontraron las cantidades de 0.203 y 0.762 mg L<sup>-1</sup> de bifentrina a 60 y 200 m de distancia, respectivamente, las cuales son 1.2 y 3.6 veces más altas que en la anterior determinación. En la tercer recolecta (114 días después de la aplicación) todavía se pudieron encontrar cantidades tan altas de 0.358 y 0.118 mg L<sup>-1</sup> a 60 y 200 m de distancia, respectivamente, las cuales fueron 2.2 y 1.8 veces mayor que en la primer recolecta, a los 60 y 200 m de distancia, respectivamente (Figura 20).

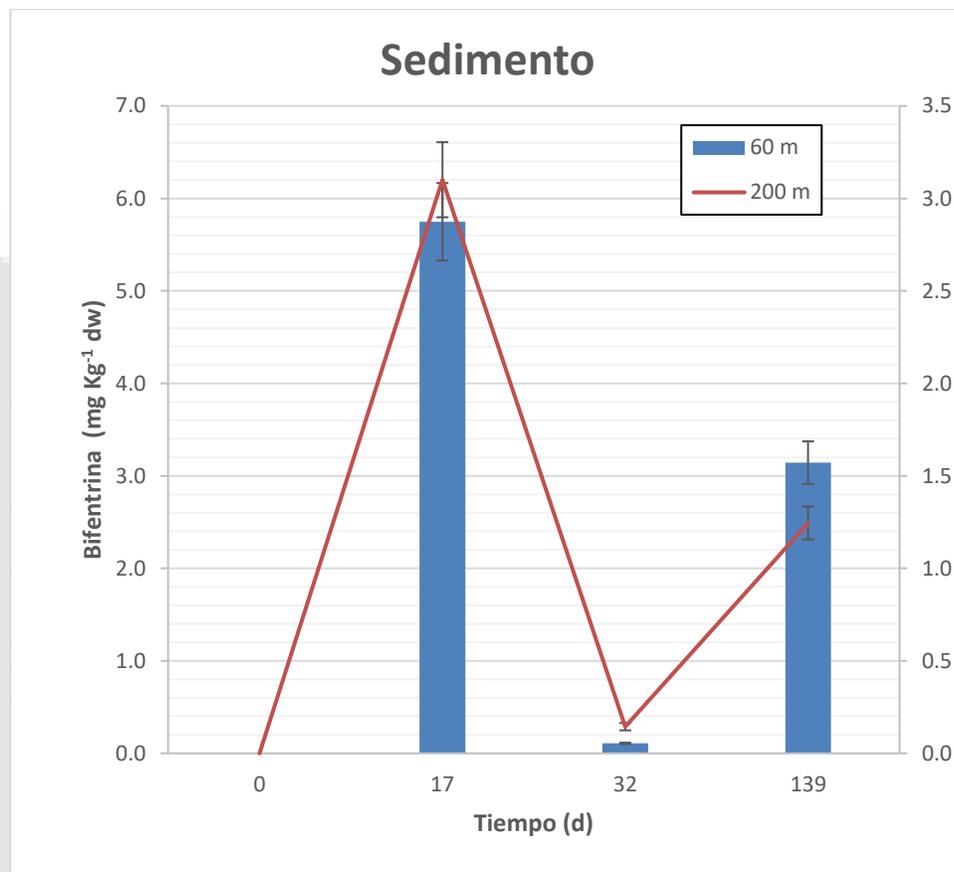
Con respecto al sedimento, se encontraron concentraciones de bifentrina tan altas como 5.75 y 3.10 mg Kg<sup>-1</sup> dw a 60 y 200 m de distancia del sitio de aplicación (17 días después de la aplicación), en la segunda recolecta (32 días después de la aplicación) disminuyó a 0.108 mg Kg<sup>-1</sup> dw en el mismo sitio de muestreo (60 m) y a 200 m se encontró una concentración de bifentrina de 0.144 mg Kg<sup>-1</sup> dw. En la tercer recolecta de sedimento (139 días después de la aplicación del insecticida) se encontraron cantidades de 0.142 y 0.245 mg Kg<sup>-1</sup> dw a los 60 y 200 m, respectivamente (Figura 21).



**Figura 19.** Concentraciones del plaguicida bifentrina encontradas en las muestras de suelo después de su aplicación por control de brote del insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* en la Sierra Fría, Aguascalientes, México. N= 3.



**Figura 20.** Concentraciones del plaguicida bifentrina encontradas en las muestras de agua después de su aplicación por control de brote del insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* en la Sierra Fría, Aguascalientes, México. N=3.



**Figura 21.** Concentraciones del plaguicida bifentrina encontradas en las muestras de sedimento después de su aplicación por control de brote del insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* en la Sierra Fría, Aguascalientes, México. N=3.

## 7. DISCUSIÓN

Este es el primer trabajo que compara la toxicidad aguda y crónica de los insecticidas piretroides bifentrina, cipermetrina y deltametrina, y los semioquímicos verbenona y MCH. Los insecticidas piretroides se utilizan actualmente o se recomiendan para controlar y feromonas de antiagregación para prevenir las infestaciones del insecto descortezador de coníferas (*Dendroctonus mexicanus*) (Fettig y Hilszczanski, 2015; SEMARNAT, 2018; Seybold *et al.*, 2018) en especies no diana como los invertebrados dulceacuícolas. Es importante el estudio de los semioquímicos como una alternativa amigable con el medio ambiente en comparación con los pesticidas piretroides, pues estos últimos han demostrado ser tóxicos a concentraciones extremadamente bajas ( $\text{ng mL}^{-1}$ ) que pueden encontrarse en ambientes acuáticos naturales, al mismo tiempo tenemos que asegurarnos que los semioquímicos no conlleven efectos secundarios a organismos no diana. Este trabajo sería el primero en determinar el factor de bioconcentración (BCF) y cargas corporales de semioquímicos y piretroides en organismos no blanco (zooplankton), comparamos resultados de toxicidad letal y su efecto en la reproducción en dos organismos planctónicos de *phyla* diferentes (un cladóceros y un rotífero), correlacionando estos valores con los de las pruebas agudas y crónicas, las cargas corporales y la relación de éstas con la resistencia o baja toxicidad en los organismos acuáticos. Se evaluaron también, los tiempos de vida (degradación) de estos compuestos en ambiente acuático por último, se determinaron las concentraciones encontradas del insecticida bifentrina en el ecosistema bosque después de su aplicación por un brote de insecto descortezador *Dendroctonus mexicanus* y la capacidad de éste para bioacumular los insecticidas piretroides: bifentrina, deltametrina y cipermetrina, resultados que pueden ser utilizados para la evaluación científica de riesgos que los productos químicos pueden representar para los humanos y el medio ambiente (Kim *et al.*, 2016).

Hasta donde sabe la autora, este es el primer trabajo a nivel mundial que compara la toxicidad aguda de los insecticidas piretroides bifentrina, deltametrina y cipermetrina en el escarabajo de la corteza *Dendroctonus mexicanus*, los cuales se utilizan actualmente o se recomiendan para controlar este tipo de infestaciones (Fettig y Hilszczanski, 2015; SEMARNAT, 2018; Seybold *et al.*, 2018). También es el primero en monitorear la residualidad del insecticida

bifentrina en el ecosistema bosque después de su aplicación en una infestación, por último, también es el primero en obtener el BAF y cargas agudas en el insecto plaga (descortezador) como parte de un análisis integral de toxicidad.

### **7.1 Toxicidad aguda de 48 h en el rotífero y el cladóceros**

Como se esperaba, los insecticidas piretroides son una estrategia de control del insecto descortezador que conlleva un riesgo medioambiental importante ya que como se demuestra en el presente estudio, presentan una toxicidad alta para organismos acuáticos (como los aquí evaluados) con concentraciones letales ambientalmente relevantes ya que pueden encontrarse en reservorios de agua después de una aplicación como control del insecto descortezador. En una serie de ensayos de campo llevados a cabo en Canadá para examinar los efectos secundarios de la aplicación aérea de permetrina utilizada para controlar las plagas forestales se encontraron niveles medidos de residuos de permetrina de  $2.6 \text{ mg L}^{-1}$  en las corrientes y estanques de agua de la zona el día de la aplicación, y dos días después del tratamiento, se pudieron encontrar concentraciones de  $0.25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  (Kingsbury y Kreutzweiser, 1980).

Riaz *et al.* (2018) encontraron concentraciones de hasta 0.082, 0.071, 0.59 y  $0.051 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de cipermetrina, deltametrina, permetrina y bifentrina respectivamente en muestras de agua del río Chenabe en Pakistán. Otros autores han reportado el hallazgo de insecticidas piretroides en ríos y lagos de todo el mundo; Zheng *et al.*, 2016, reportaron concentraciones de  $0.154 - 0.609 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  y de hasta  $0.261 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para los piretroides cipermetrina y bifentrina, respectivamente, en agua del río Jiulong en China.

Akan *et al.* (2015), reportaron concentraciones de  $0.48-0.93 \text{ mg L}^{-1}$ , de  $0.28-1.14$  y de hasta  $0.29-1.36 \text{ mg L}^{-1}$  para los piretroides cipermetrina, deltametrina y bifentrina, respectivamente, en agua del río Benue en Nigeria y Liu *et al.*, 2004, reportaron concentraciones de bifentrina de  $0.22-45.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  en agua del arroyo San Diego en E.U.A. En ambos estudios las concentraciones fueron muy superiores a las  $CL_{50}$  obtenidas en nuestro estudio para ambas especies de zooplancton (para el cladóceros *A. guttata* de  $0.006 - 0.01 \text{ mg L}^{-1}$  y de  $0.020 - 60.36 \text{ mg L}^{-1}$  para el rotífero *L. papuana*), lo que demuestra el alto peligro

que estos piretroides representan para la fauna acuática, cantidades que pueden aumentar en temporada de lluvias por el arrastre de piretroides a los reservorios de agua. Delgado-Moreno *et al.* (2011) midieron las concentraciones únicas de permetrina cis y trans en las cuencas costeras del sur de California. Estos valores fueron mucho más altos durante la estación húmeda (1.8 - 901 ng L<sup>-1</sup>) que los encontrados durante la estación seca (0.5 - 41 ng L<sup>-1</sup>).

Se ha demostrado que la toxicidad aguda (CL<sub>50</sub>) de los piretroides en los organismos acuáticos (zooplancton) es aproximadamente 1000 veces mayor que la toxicidad en organismos blanco (insectos) (Beckel *et al.*, 2006; Chernaki-Leffer *et al.*, 2011). Este aumento de la sensibilidad en los organismos acuáticos puede deberse a varios factores; entre ellos, una mayor sensibilidad de los sitios fisiológicos en los organismos acuáticos. El modo de acción de los piretroides implica la alteración de la permeabilidad iónica de las células neuronales (Clark y Matsumura, 1982), dado que los organismos acuáticos de agua dulce viven en un ambiente extremadamente diluido, los procesos involucrados en el mantenimiento del equilibrio iónico y la osmorregulación son críticos para el mantenimiento de la homeostasis y una alteración mínima en la permeabilidad de las membranas sería fatal para el organismo (Schmidt-Nielsen, 1997). Tales efectos también se han reportado para peces, en los cuales la exposición de las especies a piretroides interrumpe las superficies respiratorias y la regulación de iones (Symonik *et al.*, 1989). Por último; el prolongado tiempo de exposición con una mayor superficie de contacto (ambiente acuático) aumentando la sorción de los piretroides que puede conducir a una mayor bioconcentración (Tu *et al.*, 2014; Corcellas *et al.*, 2015). El aumento en la bioconcentración de los piretroides puede conducir a un aumento en los niveles intracelulares de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y provocar estrés oxidativo durante el metabolismo de los piretroides. Estas ROS que incluyen peróxidos y radicales libres, pueden causar peroxidación lipídica y afectar la función de las macromoléculas celulares y las actividades enzimáticas (Amin y Hashem, 2012; Awoyemi *et al.*, 2014). También el aumento de las ROS puede inducir el sistema de caspasa proapoptótica (Casp-9 y Casp-3) que ejecuta la apoptosis. Además, las ROS puede inducir el gen supresor tumoral p53 que regula la apoptosis y contribuir a la toxicidad letal de estos pesticidas en los sistemas acuáticos (Awoyemi *et al.*, 2019).

Si hacemos una comparación entre las especies evaluadas, podemos ver que la especie más resistente fue el rotífero *L. papuana* con una  $CL_{50}$  de hasta  $60.36 \text{ mg L}^{-1}$  para cipermetrina. El rotífero presenta mayor resistencia a todos los compuestos evaluados con respecto al cladóceros *A. guttata* quien fue más sensible para todos los compuestos evaluados. Nuestros resultados difieren con los reportados por Sánchez-Fortún y Barahona (2005), donde encontraron una  $CL_{50}$  de  $0.08 \text{ mg L}^{-1}$  para cipermetrina en el rotífero *B. calyciflorus*. Nuestros resultados muestran que el rotífero *L. papuana* fue 754.5 veces más resistente a cipermetrina que el rotífero *B. calyciflorus*. Garza- León *et al.* (2017) reportaron una  $CL_{50}$  de cipermetrina para *L. papuana* de  $34.58 \text{ mg L}^{-1}$ , valor muy similar al encontrado en nuestro estudio, lo que demuestra que esta especie, al contrario de otros rotíferos, presenta una alta resistencia a piretroides.

La resistencia a piretroides por parte de *L. papuana* puede deberse a mutaciones en los canales de sodio dependientes de voltaje del sistema nervioso, el sitio objetivo de los insecticidas piretroides, la mutación de los canales de sodio impide a los piretroides unirse a estos canales. Weston *et al.* (2013) encontraron que *H. azteca*, recolectada de Mosher Slough, presentó resistencia al piretroide ciflutrina, anteriormente se ha demostrado que esta población de *H. azteca* resistente tiene una mutación en el gen L925I del canal de sodio dependiente de voltaje, una mutación que se sabe confiere resistencia a los piretroides en varias especies de insectos (Rinkevich *et al.*, 2013).

En general, los insecticidas piretroides presentaron mayor toxicidad que los semioquímicos presentando  $CL_{50}$  de  $783.54$  y  $120.85 \text{ mg L}^{-1}$  para MCH y de  $296.14$  y  $11.96 \text{ mg L}^{-1}$  para verbenona, en el rotífero y el cladóceros, respectivamente, concentraciones que difícilmente pueden encontrarse en ambientes naturales, por lo que este estudio demuestra que la aplicación de semioquímicos para el control del insecto descortezador es segura para organismos acuáticos como los aquí estudiados, sobre todo porque estos son compuestos volátiles que raras veces tienen un contacto directo con los insectos, la corteza o el suelo. Sin embargo, las tasas letales (48 h) de los insecticidas piretroides fueron muy bajas (de hasta  $6.1 \mu\text{g L}^{-1}$  para bifentrina), concentraciones relevantes que pueden encontrarse en entornos naturales y, por lo tanto, afectar a las poblaciones acuáticas, principalmente de cladóceros. El piretroide más tóxico de los tres evaluados para ambas especies fue bifentrina que es

38,885 veces más tóxico que MCH (el semioquímico menos tóxico en ambas especies) para el rotífero *L. papuana*. y 19,698 veces más tóxico para el cladóceros *A. guttata*.

## 7.2 Toxicidad crónica (tasa de crecimiento intrínseco, $r$ )

Como podemos observar, la cipermetrina presenta una tasa de toxicidad aguda-crónica ACR (por sus siglas en inglés: Acute to Chronic Ratio) mayor de los tres piretroides evaluados (Tabla 10 y 11), tanto en *A. guttata* como en *L. papuana* lo que indica que la toxicidad de cipermetrina afecta la reproducción ( $r$ ) de ambas especies. Si bien, la cipermetrina es el compuesto al que presentan mayor resistencia los dos organismos evaluados, la resistencia o la baja toxicidad a un compuesto puede tener otras implicaciones, por ejemplo, la asignación significativa de energía a la biotransformación y a procesos de desintoxicación, lo que puede resultar que los organismos sean más sensibles a otros estresores (Werner *et al.*, 2002). Los costos de retener la resistencia pueden limitar la cantidad de energía que un organismo puede asignar al desarrollo y la reproducción. Osorio-Treviño *et al.* (2019) encontraron que *A. guttata* expuesta al piretroide deltametrina disminuyó significativamente las reservas de energía y consecuentemente produjo menos neonatos que los controles no expuestos. La asignación significativa de energía a la desintoxicación (biotransformación y/o eliminación) puede tener un impacto en la reproducción, así la tolerancia al estrés podría potencialmente traducirse en efectos en la población en general.

## 7.3 Bioacumulación

A pesar de la suposición inicial de que los insecticidas piretroides son "ideales" porque no se bioacumulan, por su rápida degradación y porque pueden ser metabolizados por los mamíferos (Elliott *et al.*, 1978), estudios recientes han demostrado bioacumulación en ambientes naturales en varias especies (Vengayil *et al.*, 2011; Corcellas *et al.*, 2015; Aznar-Alemany *et al.*, 2017; Aznar-Alemany y Eljarrat, 2020b). Nuestros resultados muestran una alta capacidad de bioacumulación en *A. guttata* con el BCF tan altos como 9 385, 6 335 y 5 177 para cipermetrina, bifentrina y deltametrina, respectivamente. El grado al que un

contaminante se concentrará en un organismo es expresado como el BCF, así, un BCF de 100 significa que el organismo concentra la sustancia química 100 veces más que los medios circundantes (Arunakumara *et al.*, 2007). La bioacumulación es el resultado neto de tasas competitivas de absorción y eliminación de sustancias químicas en un organismo en condiciones de exposición definidas (Arnot y Gobas, 2006). Los semioquímicos presentan altas tasas de bioacumulación (Tabla 10 y 11), con cargas corporales de hasta 410.42  $\mu\text{g g}^{-1}$  para MCH y 378.14  $\mu\text{g g}^{-1}$  para verbenona en *A. guttata* y de hasta 128,512.24  $\mu\text{g g}^{-1}$  para verbenona y 680,157.34  $\mu\text{g g}^{-1}$  para *L. papuana*, estas cantidades bioacumuladas son realmente altas pero presentan BCF bajos (4.69 para MCH y 57.42 para verbenona), lo que nos indica que los semioquímicos necesitarían encontrarse en ambientes acuáticos en concentraciones realmente altas para poder bioacumularse en los organismos acuáticos, lo cual es poco probable, pues éstos son compuestos orgánicos volátiles cuyo uso es a través de dispositivos que los liberan en forma gaseosa al ambiente y no se aplican en forma líquida como es el caso de los insecticidas. Con respecto a *L. papuana*, los BCF fueron de 297.19 para verbenona y 634.75 para MCH, lo que demuestra que serán poco bioacumulables en organismos acuáticos en comparación con los piretroides evaluados. De acuerdo con el criterio de la Convención de Stocolmo (SC, 2008) los compuestos orgánicos con el coeficiente de reparto octanol-agua (Log Kow) entre 3.7 y 8.2 o el BCF  $\geq 5\ 000$ , son potencialmente acumulativos. De esta forma los semioquímicos podrían no acumularse en las especies evaluadas. Sin embargo, los tres piretroides (bifentrina, cipermetrina y deltametrina), a bajas concentraciones (como las evaluadas en este estudio) podrían bioacumularse en el cladóceros *Alona guttata*.

Las altas tasas de bioacumulación observadas en el rotífero *L. papuana* para todos los compuestos evaluados en comparación con las cantidades de bioacumulación en el cladóceros *A. guttata* pueden deberse al poco tiempo de exposición que sólo fue de 48 h (tiempo de exposición en el cladóceros de 10 d), tiempo en el cual pudo no haberse alcanzado el estado estacionario. El valor de cargas corporales observado en una exposición a corto plazo será mayor que lo observado en una exposición a largo plazo, por lo tanto, se debe tener precaución por las cargas corporales obtenidas a partir de tiempos de exposición cortos (Yang *et al.*, 2018). Los valores medidos en *L. papuana* pueden deberse a la lenta tasa de distribución corporal para los compuestos estudiados. La cinética de bioabsorción abarca

muchos procesos, incluida la absorción del agua al cuerpo través de la exposición de las branquias y la piel, la distribución en los sitios objetivo, el metabolismo y la excreción (Escher *et al.*, 2011).

Existen varios estudios que demuestran que los cladóceros son más sensibles a la toxicidad por piretroides que los rotíferos (Friberg-Jensen, *et al.*, 2003; Garza-León *et al.*, 2017). Los cladóceros al estar expuestos a sustancias tóxicas reasignan la energía de los lípidos y disminuyen su concentración corporal, resultando en una menor capacidad para bioacumular compuestos lipofílicos como los aquí estudiados (Sancho *et al.*, 2009). Al contrario, los rotíferos presentan una lórica gruesa donde los compuestos lipofílicos pueden bioacumularse y así presentar grandes cantidades de cargas corporales sin que produzcan efectos tóxicos (Hernández-Ruiz *et al.*, 2016), como las obtenidas en nuestro estudio. También las altas tasas de bioacumulación observadas por el rotífero *L. papuana* puede explicar la resistencia exhibida a todos los compuestos evaluados, CL<sub>50</sub> de hasta 60.39 y 783.54 mg L<sup>-1</sup>, para cipermetrina y MCH, respectivamente, en comparación con las mostradas por el cladócero *A. guttata*. Muggelberg *et al.* (2017) demostraron que la resistencia a los pesticidas piretroides mostrada por el anfípodo epibéntico *Hyallela azteca* se debe al potencial de bioacumulación de esta especie cuando se expuso a altas concentraciones del piretroide permetrina. Los organismos resistentes tienen tasas de biotransformación o excreción más altas o, alternativamente, los compuestos se acumulan en los tejidos de los organismos a concentraciones más altas que en las especies no resistentes, así los organismos no resistentes sucumbirán a la toxicidad antes de alcanzar cargas corporales elevadas. Muggelberg *et al.* (2017) también observaron que el grado de bioacumulación fue similar a concentraciones de exposición más bajas, por lo que es poco probable que las diferencias toxicocinéticas produzcan una disminución de la sensibilidad. Los organismos resistentes deben diferir de los no resistentes con respecto a los procesos toxicocinéticos (absorción, biotransformación y eliminación) pero demostraron que el potencial de bioacumulación es el que confiere la mayor resistencia. Además, un alto grado de bioacumulación de piretroides en organismos de nivel trófico inferior aumenta la probabilidad de transferencia trófica de estos compuestos en la red alimentaria. Los autores también demostraron que la permetrina bioacumulada por *H. azteca* resistente fue capaz de transferirse a sus peces depredadores por ingestión.

Otros autores han demostrado bioacumulación de piretroides en especies acuáticas. Riaz *et al.*, 2018 encontraron concentraciones de los piretroides cipermetrina, bifentrina y deltametrina de  $0.472 \mu\text{g g}^{-1}$ ,  $0.251 \mu\text{g g}^{-1}$  y  $0.459 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente, en peces del río Chenab, Pakistán. Smalling *et al.*, 2013 encontraron concentraciones de bifentrina de  $41.1 \mu\text{g kg}^{-1}$  en peces del estuario California, E.U.A. Estos hallazgos indican el potencial peligro de transferencia trófica de piretroides.

#### **7.4 Degradación de piretroides por las especies acuáticas *Lecane papuana* y *Alona guttata***

Como se puede observar en las Tabla 13 y 14 la tasa de degradación de los piretroides y los semioquímicos varía con la concentración y con la presencia de zooplancton en la solución. Lutnicka (1999), demostró que los procesos de degradación de piretroides se desarrollaron de acuerdo con la cinética de primer orden y dependieron del tipo de compuestos evaluados y concentraciones iniciales. En general la vida media de los piretroides y semioquímicos fue corta, el tiempo de vida media ( $t_{1/2}$ ) mayor fue de 21.1 d para bifentrina y 16.6 d para MCH. En general se observó que, con la presencia del zooplancton en el medio, la eliminación de los compuestos fue más rápida. Nuestros resultados difieren con los reportados por Maguire *et al.* (1989) donde reportaron una vida media de la deltametrina de menos de 1 h en agua de un estanque rociado con 6.2 g de ingrediente activo por ha de deltametrina como Decis 2.5 EC®. En nuestro estudio, el  $t_{1/2}$  de deltametrina fue de 10.3 y 2.3 d en la concentración inicial alta y baja, respectivamente. Las principales rutas de degradación y disipación a largo plazo de los piretroides en agua son la volatilización, isomerización, conversión química y fotoquímica en isómeros, la hidrólisis con la posterior oxidación de los productos y la división en sólidos y sedimentos suspendidos (Pawlisz *et al.*, 1998). Los valores de vida media más altos encontrados en nuestro estudio pueden deberse a la ausencia de materia orgánica por lo que no ocurrió división en sólidos orgánicos y sedimentos. Riaz *et al.* (2018) analizaron los niveles de varios insecticidas piretroides a lo largo del río Chenab, Pakistán, encontraron que éstos son más altos en invierno que en verano, esto puede deberse a que la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

cantidad y fuerza de la luz irradiada por el sol en invierno es mucho más baja que en verano, por lo que la degradación de los piretroides es más lenta, lo que demuestra que la fotodegradación es una de las principales vías de eliminación de los compuestos orgánicos como los aquí analizados (Liu *et al.*, 2010). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden ser producidas por la luz solar en un ambiente acuático y las ROS pueden participar en la fotólisis indirecta de piretroides (Zhan, 2009). Los compuestos aquí evaluados presentan alta tasa de degradación a temperatura y luz que asemejan el medio ambiente (25 °C, 16:8 luz:oscuridad) con tiempos de vida media menores a los 21 días.

Es bien conocida la efectividad de los insecticidas piretroides para matar un amplio número de plagas entre ellas los descortezadores del género *Dendroctonus*, pero poco se sabe de la residualidad de éstos en el ecosistema bosque después de su aplicación como medida de control o combate de estos insectos, ni de la capacidad de bioacumulación de estos insecticidas en los insectos blanco (descortezador) con posible transferencia a través de las cadenas tróficas. Se sabe que el modo de aplicación de los insecticidas es responsable de su efectividad (Saeed *et al.*, 2011). La susceptibilidad de plagas de curculiónidos a los insecticidas puede variar según el método de exposición ya sea por contacto o ingestión (Fettig *et al.*, 2011). En el presente estudio se observó que no sólo el método de aplicación es el responsable de su efectividad, sino también el tipo de insecticida. Aunque los tres insecticidas aquí analizados son piretroides, los tres mostraron diferencias de efectividad según el insecticida y el método de aplicación (Tabla 8). A mi consideración, el método de aplicación en la corteza se asemeja más al método de aplicación del insecticida en campo durante un saneamiento, ya que la aplicación del insecticida es sobre el tronco o la corteza del árbol derribado. Sin embargo, el método de aplicación en la corteza sugiere dos formas de toxicidad, por contacto y por ingestión ya que los insectos descortezadores se siguieron alimentando del floema de la corteza durante el tiempo de los ensayos. Por esta metodología, el insecticida más tóxico fue cipermetrina con CL<sub>50</sub> y CL<sub>99</sub> 2.5 y 7.2 veces mayor que bifentrina y 4.6 y 10.5 veces mayor que el CL<sub>50</sub> y CL<sub>99</sub> de deltametrina, respectivamente. Sin embargo, el CL<sub>99</sub> de bifentrina obtenida en este trabajo es 1.4 veces menor que la dosis recomendada por las autoridades sanitarias del país (CONAFOR, 2015) la cual es de 500 mg L<sup>-1</sup> y deltametrina es 6.44 veces menor que las dosis recomendadas por las autoridades

sanitarias del país (CONAFOR) (dosis recomendadas de 500 mg L<sup>-1</sup> de i.a. de bifentrina y 2,000 mg L<sup>-1</sup> de i.a de deltametrina).

Saeed (2011) determinó el CL<sub>50</sub> de 48 h de 17.4 y 8.11 mg L<sup>-1</sup> de bifentrina y deltametrina, respectivamente en el coleóptero *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing, una de las plagas de insectos más destructivas de los árboles de mango. Los resultados son muy similares a las obtenidas en nuestro estudio, sin embargo, ellos sumergían el perno en su totalidad en la solución del insecticida y en nuestro estudio sólo aplicamos 0.5 mL del insecticida sobre la corteza.

Existen muy pocos estudios realizados sobre la bioacumulación insecticidas en escarabajos del género *Dendroctonus* después de su aplicación como método de control de un brote. Morrissey *et al.* (2007) encontraron niveles elevados del plaguicida a base de arsénico, metanearsonato monosódico, en escarabajos de pino de montaña adultos, insecticida utilizado ampliamente para suprimir los brotes por este escarabajo; encontraron niveles de arsénico de hasta 327 µg g<sup>-1</sup> dw (peso seco, por su siglas en inglés) en los escarabajos y hasta 0.18 µg g<sup>-1</sup> dw en los pájaros carpinteros que se alimentaron de éstos. Estos resultados indican que existe una importante acumulación y transferencia de plaguicidas dentro de la cadena alimentaria a niveles que pueden presentar un riesgo de toxicidad para la vida silvestre aviar después de la aplicación de un plaguicida al tratar de suprimir un brote.

La bioacumulación de piretroides se había ignorado en el pasado por la capacidad de los mamíferos de metabolizarlos; sin embargo, hay evidencias de su bioacumulación en varias publicaciones (Aznar-Aleman y Eljarrat, 2020b).-Una de ellas es la encontrada en aves y la detectada en sus huevos. El descubrimiento de estos compuestos tóxicos en los huevos de aves es indicativa de bioacumulación y es un resultado directo de la transferencia materna a través de la ingesta alimentaria (Morrow *et al.*, 2015). En el presente estudio se encontraron evidencias de bioacumulación de piretroides en el escarabajo descortezador *Dendroctonus mexicanus* (bifentrina 182.58 µg g<sup>-1</sup> dw y 293.04 µg g<sup>-1</sup> dw, deltametrina 253.14 µg g<sup>-1</sup> dw y 622.41 µg g<sup>-1</sup> dw y cipermetrina 128.18 µg g<sup>-1</sup> dw y 183.09 µg g<sup>-1</sup> dw), los cuales están potencialmente accesibles para que pájaros insectívoros endémicos con potencial de transferencia dentro de la cadena alimentaria. Los experimentos de campo que evalúan la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

bioacumulación de plaguicidas piretroides en las cadenas tróficas son escasos, sin embargo, estudios recientes mostraron su potencial de bioacumulación (Corcellas *et al.*, 2015; Rivera-Dávila *et al.*, 2021), pero su biomagnificación a lo largo de la cadena alimentaria aún no está clara. Barón *et al.* (2014) analizaron la presencia de piretroides en huevos de aves silvestres del Parque Nacional de Doñana (España), siendo el 93% de estas muestras positivas a estos contaminantes; los niveles de piretroides totales detectados fueron de hasta 324 ng g<sup>-1</sup>. La presencia de estos compuestos en los huevos sugiere que son persistentes, bioacumulativos y potencialmente biomagnificantes.

La bioacumulación está relacionada con la persistencia ambiental de los compuestos (Ernst *et al.*, 2018). Según el Convenio de Estocolmo (SC, 2008), para que un compuesto pueda considerarse potencialmente bioacumulativo debe tener una vida media superior a 2 meses en el agua o superior a 6 meses en el suelo y los sedimentos. Los piretroides tienen baja persistencia ambiental (< 90 días) (Feo *et al.*, 2010), sin embargo, el uso continuo de éstos los hace omnipresentes en el medio ambiente por lo que se consideran contaminantes pseudopersistentes. Rossi *et al.* (2020) analizaron muestras de agua, sedimento y peces expuestos a bifentrina en un campo de arroz; en sus resultados no detectaron bifentrina en las muestras de sedimentos y agua, sin embargo, estuvo presente en todos los peces analizados. Estos resultados muestran la naturaleza fácilmente biodisponible de este compuesto y que a concentraciones muy bajas la bioacumulación puede ocurrir al tener exposiciones recurrentes a estos compuestos.

Aunque los piretroides han demostrado una baja toxicidad aguda en mamíferos y aves, en parte debido a su fácil metabolización (Scollon *et al.*, 2009), sus efectos ambientales indirectos son importantes. Aunque la toxicidad directa para las aves es baja, estos pueden afectar indirectamente a las aves insectívoras en su fisiología y comportamiento, así como a través de la disminución de su base de presas (Pendleton y Baldwin, 2007).

Los datos aquí presentados, se pueden utilizar para evaluar los beneficios de los pesticidas piretroides y los posibles efectos tóxicos para organismos no objetivo al tener contacto con sus residuos en el medio ambiente. Además, los datos de toxicidad generados en esta

investigación, demuestran que se puede esperar efectos tóxicos agudos y crónicos de los insecticidas piretroides a partir de las concentraciones ambientales informadas en la literatura científica.

Los ecosistemas acuáticos parecen ser especialmente sensibles a estos compuestos (Corcellas *et al.*, 2015; Colin *et al.*, 2016; Clasen *et al.*, 2018); los cuales se contaminan fácilmente a través de la escorrentía. Se ha demostrado que los insecticidas piretroides son extremadamente tóxicos para los organismos acuáticos en el rango de  $\text{ng L}^{-1}$  (Shen *et al.*, 2012; Tu *et al.*, 2016). En el presente estudio se encontraron concentraciones de  $0.165 \text{ mg L}^{-1}$  del insecticida bifentrina 15 días después de su aplicación en el tronco, concentración necesaria para causar la mortalidad de organismos zooplanctónicos que habitan los reservorios de agua ( $0.0201 \text{ mg L}^{-1}$  para *Lecane papuana* y  $0.0061 \text{ mg L}^{-1}$  para *Alona guttata*), sin embargo en la segunda recolecta (32 días después de la aplicación) se encontraron concentraciones de  $0.203$  y  $0.762 \text{ mg L}^{-1}$  a los 60 y 200 m de distancia, respectivamente, estas concentraciones encontradas en las muestras de agua sobrepasan 10.09 y 37.91 veces la  $\text{CL}_{50}$  para *Lecane papuana* y 33.27 y 124.92 veces la  $\text{CL}_{50}$  para *Alona guttata* (Rivera-Dávila *et al.*, 2021). Además, las concentraciones de bifentrina en agua encontradas en nuestro estudio pueden causar la muerte de *C. dubia* ya que las  $\text{CL}_{50}$  para esta especie son aproximadamente  $0.040 - 0.100 \mu\text{g L}^{-1}$  para bifentrina (Yang *et al.*, 2006).

Se esperaba que las concentraciones ambientales de bifentrina disminuyeran con el paso del tiempo, pero no fue así, sino que éstas fueron superiores, 139 días después de la aplicación, se encontraron concentraciones superiores a las detectadas en las primeras recolectas (agua y sedimento).

Se cree que el deslave del tronco con el agua de lluvia fue la causa, ya que la aplicación del insecticida se realizó en temporada de lluvias (junio 2019). Strom y Roton, (2009). Evaluaron la efectividad residual del piretroide bifentrina (Onyx®) en tratamientos profilácticos contra los escarabajos de la corteza *Dendroctonus frontalis* Zimmermann; la bifentrina mostró efectividad residual en los troncos hasta 9 meses después de la aplicación. Brown *et al.* (2020) evaluaron el efecto de la lluvia sobre la actividad residual de permetrina contra los escarabajos ambrosía, adultos (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), aplicada en los troncos; y determinaron que la lluvia no tuvo un efecto significativo sobre la actividad

residual de la permetrina durante ninguna de las pruebas. Estos estudios nos hablan de la capacidad de adherencia de los piretroides a la materia orgánica, en este caso, los troncos de los árboles, y esta característica los hace altamente persistentes en el medio ambiente. Aunque los piretroides se consideran prácticamente insolubles en agua (de unos pocos  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), fotosensibles y se hidrolizan fácilmente, con tiempos de degradación para el 50% de la sustancia (DT50) inferior a 60 días (AERU, 2007) éstos pueden llegar a contaminar las diferentes matrices del ecosistema bosque.

Las concentraciones encontradas en las muestras medioambientales son tan altas como para causar la muerte de organismos acuáticos y de aquellos que viven en suelos y sedimentos. Las aplicaciones de piretroides en el suelo disminuyen el número de ácaros depredadores y, en altas tasas de aplicación, los piretroides causan una reducción significativa en las poblaciones de lombrices de tierra (Song *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017). Se observó una mortalidad de hasta el 100% el anfípodo *Hyaella azteca* atribuible a bifentrina a concentraciones de hasta  $20 \text{ ng g}^{-1}$  (Domagalski *et al.*, 2010). La vida media de la bifentrina en los sedimentos es de 8 a 17 meses (Gan *et al.*, 2005). Los valores estimados de DT50 son superiores a un año y se informa que la bifentrina “no se degrada fácilmente” en el agua (Corcellas *et al.*, 2017). Weston *et al.* (2009) demostraron que la cantidad de piretroides medidos tanto en agua como en sedimentos fueron más altas en la temporada de lluvias. Los piretroides son una especie de insecticidas biomiméticos de alta hidrofobicidad, que cuando se aplican en el medio ambiente son fácilmente adsorbidos por partículas y finalmente acumulados en sedimentos (Qin *et al.*, 2011), por lo que ya se esperaba que se encontrara en mayor cantidad de bifentrina en los sedimentos analizados. Se cree que la escorrentía de las tormentas originó el arrastre del suelo cargado del piretroide bifentrina y posterior vertido de éste al caudal del río donde se depositó y acumuló gran cantidad de bifentrina en los sedimentos. La cantidad de bifentrina encontrada en sedimentos en nuestro estudio es preocupante (de  $0.108$  hasta  $5.75 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dw}$ ) cantidades que superan las necesarias para matar al 50% de *H. azteca*, que se encuentra entre las especies más sensibles probadas con piretroides (Clark *et al.*, 2015). En un estudio sobre el agua de un río urbano en California, E.U.A., las concentraciones de  $\text{CE}_{50}$  de 96 h reportadas para causar parálisis en *H. azteca* fue  $3.3 \text{ ng L}^{-1}$  y la  $\text{CL}_{50}$  de 96 h para mortalidad fue de  $7.7 \text{ ng L}^{-1}$  (Weston *et al.*, 2009; Weston y Lydy, 2012). Harwood *et al.* (2013) reportaron concentraciones letales ( $\text{CL}_{50}$ ) de bifentrina

de 10 días de 0.0046, 0.0139 y 0.0262 mg kg<sup>-1</sup> y 0.087, 0.108 y 0.189 mg kg<sup>-1</sup>, para *Hyaella azteca* y *Chironomus dilutus*, respectivamente, en sedimentos de tres diferentes áreas del sur de Illinois, E.E. U.U. Este pesticida piretroide tiende a ser estable y persistir en sedimento acuático con una vida media larga de hasta 17 meses (Gan *et al.*, 2005). La biodisponibilidad es el primer paso para la bioacumulación (Aznar-Aleman y Eljarrat, 2020b). En nuestro estudio se detectaron concentraciones, 139 días después de la aplicación de bifentrina, de 3.14 y 1.25 mg kg<sup>-1</sup> dw en sedimentos de 60 y 200 m de distancia de la aplicación, respectivamente, estos datos nos hablan de la concentración sostenida por largo tiempo de cantidades letales para los organismos que habitan los sedimentos y probable bioacumulación por exposición durante este tiempo. Por otro lado, se reconoce que el destino de los compuestos en los compartimentos ambientales depende de las propiedades fisicoquímicas que, a su vez, afectan su degradación y transformación (Aznar-Aleman y Eljarrat, 2020a). Degenhardt y Greene (2012) han observado que la degradación y la sorción son las principales vías para la disipación de los piretroides del agua. Nuestros hallazgos demuestran un patrón similar en la partición de la bifentrina, ya que sus niveles eran más altos en los sedimentos que en las muestras de agua recolectadas en el mismo sitio.

El piretroide bifentrina es lipofílico y, por tanto, casi insoluble en agua (0.001 mg L<sup>-1</sup> a 20 °C) (U.S. EPA, 2012), esta característica fisicoquímica es consistente con nuestros resultados donde se detectaron concentraciones más bajas en muestras de agua, que en suelo y sedimento. Las concentraciones más elevadas de bifentrina tiempo después de su aplicación en los tres compartimentos analizados, demuestra la persistencia de ésta en el tronco y que con cada evento de lluvia el tronco se deslavaba y la bifentrina llega al suelo, posteriormente al caudal del río depositándose en los sedimentos y por último parte de ésta fue disuelta en el agua del río. En el presente estudio se detectó bifentrina en el agua hasta 139 días después de la aplicación en el tronco, tiempo suficiente para bioacumularse en organismos acuáticos. Rivera-Dávila *et al.* (2021) demostraron bioacumulación de bifentrina de hasta 563.99 µg g<sup>-1</sup> dw en el rotífero *Lecane papuana* en tan sólo 10 días de exposición a este compuesto. Corcellas *et al.* (2017) sugieren que la ingesta dietética desempeña un papel importante en la bioacumulación de piretroides; encontraron bifentrina en los huevos de Doñana (España) en más del 75% de las muestras y concluyeron que los huevos de aves de alimentación acuática estuvieron entre los más contaminados, por lo que una concentración

sostenida de estos compuestos en ambientes acuáticos, como las que se encontraron en este estudio, pueden causar problemas en aves que se alimentan de especies acuáticas.



## 8. CONCLUSIÓN

Con los resultados aquí obtenidos se puede concluir que la hipótesis de investigación planteada no se cumplió, ya que se pensaba que tanto los piretroides como los semioquímicos utilizados en el control del insecto descortezador serían seguros para especies acuáticas como el cladóceros *A. guttata* y el rotífero *Lecane papuana* y que se degradarían fácilmente en el medio ambiente. La determinación de residuos de bifentrina en el ecosistema bosque y la bioacumulación de insecticidas piretroides, así como la comparación entre concentraciones letales de estos insecticidas es relevante porque se demuestra que estos insecticidas piretroides, por sus características fisicoquímicas, permanecen en el medio ambiente de un bosque (agua, suelo y sedimento) por más tiempo de lo esperado, después de una aplicación para controlar infestaciones por insectos descortezadores, y que ésta permanencia puede dar lugar a problemas adversos como toxicidad letal y subletal en organismos no diana como son los organismos de tierra, de sedimento y los acuáticos. También se demostró que los insecticidas piretroides pueden bioacumularse en el insecto diana y potencialmente pasar a través de las cadenas tróficas.

También mis resultados demostraron que los semioquímicos, verbenona y MCH, presentaron baja toxicidad letal y crónica (reproducción) para los organismos acuáticos, como los aquí estudiados, en comparación con los insecticidas piretroides y que no se bioacumularían en éstos, por lo que demuestran ser seguros para su aplicación en el ecosistema bosque, además de que son compuestos orgánicos volátiles que se liberan al ambiente en estado gaseoso. Sin embargo, cuando ocurre un brote por insectos descortezadores donde el uso de plaguicidas es inminente (necesario), se deben buscar alternativas, si no seguras, al menos que produzcan el menor daño al medio ambiente. Aquí presentamos tres alternativas de piretroides los cuales presentan diferentes grados de toxicidad para organismos no diana (acuáticos). Como se puede observar el piretroide cipermetrina presenta menor toxicidad para los organismos acuáticos, como los que se evaluaron en el presente estudio y presenta menor capacidad de bioacumularse tanto en los organismos diana (insecto descortezador) como en los organismos no diana (zooplancton) por lo que podría ser una alternativa más segura que los piretroides

bifentrina y deltametrina, reduciendo el peligro de transferencia a organismos superiores de la cadena trófica.

Este es el primer trabajo que compara la toxicidad aguda y crónica de los insecticidas piretroides bifentrina, cipermetrina y deltametrina, para el control del descortezador de coníferas (*Dendroctonus mexicanus*); y de las feromonas de antiagregación, los semioquímicos verbenona y MCH, para prevenir las infestaciones del insecto descortezador.



## 9. REFERENCIAS

- AERU, 2007. PPDB: Pesticide Properties DataBase. Agriculture & Environment Research Unit (University of Hertfordshire). <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm> (Fecha de consulta: Noviembre, 2019).
- Agelopoulos, N., Birkett, M.A., Hick, A.J., Hooper, A.M., Pickett, J.A., Pow, E.M., Woodcock, C.M., 1999. Exploiting semiochemicals in insect control. *Pestic. Sci.* 55, 225-235.
- Akan, J.C., Battah, N., Waziri, M., Mahmud, M.M., 2015. Organochlorine, organophosphorus and pyrethroid pesticides residues in water and sediment samples from River Benue in Vinikilang, Yola, Adamawa state, Nigeria using gas Chromatography-Mass Spectrometry equipped with Electron Capture Detector. *Am. J. Environ. Sci.* 3, 164-173. <https://doi:10.12691/env-3-5-2>.
- Alonso, M.B., Feo, M.L., Corcellas, C., Vidal, L.G., Bertozzi, C.P., Marigo, J., 2012. Pyrethroids: a new threat to marine mammals?. *Environ. Int.* 47, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.06.010>
- Amin, K.A., Hashem, K.S. 2012. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Vet. Res.* 8, 45.
- Anderson, R.L., 1989. Toxicity of synthetic pyrethroids to freshwater invertebrates. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 403–410. doi:10.1002/etc.5620080506.
- Armendáriz-Toledano, F., Niño, A., Sullivan, B.T., Macías-Sámamo, J., Víctor, J., Clarke, S. R., Zúñiga, G., 2014. Two species within *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Curculionidae): evidence from morphological, karyological, molecular, and crossing studies. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 107, 11–27. <https://doi.org/10.1603/AN13047>
- Armendáriz-Toledano, F., Zúñiga, G., 2017. Illustrated key to species of genus *Dendroctonus* (Coleoptera: Curculionidae) occurring in Mexico and Central America. *J. Insect Sci.* 17, 34. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iex009>

- Arnot, J.A., Gobas, F.A., 2006. A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms. *Environ. Rev.* 14, 257-297. <https://doi:10.1139/a06-005>.
- Arunakumara, K.K.I.U., Xuecheng, Z., Song, X., 2007. Comparative study on bioaccumulation of lead and cadmium by the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 under laboratory conditions. *Cienc. Mar.* 33, 271-280.
- Asociación Sierra Fría, 2002. La lucha contra el descortezador de pino (*Dendroctonus* spp.) en la Sierra Fría, Aguascalientes (Informe sometido a la embajada estadounidense en México). Pp 18.
- Awoyemi, O.M., Bawa-Allah, K.A., Otitoloju, A.A., 2014. Accumulation and anti-oxidant enzymes as biomarkers of heavy metal exposure in *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus*. *Appl. Ecol. Environ. Sci.* 2, 114-122.
- Awoyemi, O.M., Kumar, N., Schmitt, C., Subbiah, S., Crago, J., 2019. Behavioral, molecular and physiological responses of embryo-larval zebrafish exposed to types I and II pyrethroids. *Chemosphere*, 219, 526–537. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.12.026
- Aznar-Alemany, Ò., Eljarrat, E., 2020a. Introduction to Pyrethroid Insecticides: Chemical Structures, Properties, Mode of Action and Use. In: Eljarrat E. (eds) *Pyrethroid Insecticides. The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer, Cham, 92, pp 1–16. [https://doi.org/10.1007/698\\_2019\\_435](https://doi.org/10.1007/698_2019_435)
- Aznar-Alemany, Ò., Eljarrat, E., 2020b. Bioavailability and bioaccumulation of pyrethroid insecticides in wildlife and humans. In: *The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 1–21. [https://doi:10.1007/698\\_2020\\_466](https://doi:10.1007/698_2020_466).
- Aznar-Alemany, Ò., Giménez, J., de Stephanis, R., Eljarrat, E., Barceló, D., 2017. Insecticide pyrethroids in liver of striped dolphin from the Mediterranean Sea. *Environ. Pollut.* 225, 346-353. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.060>.
- Barón, E., Manez, M., Andreu, A.C., 2014. Bioaccumulation and biomagnification of emerging and classical flame retardants in bird eggs of 14 species from Doñana natural

- space and surrounding areas (South-Western Spain). *Environ. Int.* 68, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.03.013>
- Beckel, H., Lorini, I., Lazzari, S.M.N., 2006. Resistance detection of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) to organophosphorous and pyrethroids insecticides. In Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection, ABRAPOS, Passo Fundo, RS, Brazil, pp. 312-318.
- Beltrán, J., Peruga, A., Pitarch, E., López, F.J., Hernández, F., 2003. Application of solid-phase microextraction for the determination of pyrethroid residues in vegetable samples by GC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 376, 502–511. <https://doi:10.1007/s00216-003-1916-z>.
- Bennett, E.R., Moore, M.T., Cooper, C.M., Smith, S., Shields, F.D., Drouillard, K.G., Schulz, R. 2005. Vegetated agricultural drainage ditches for the mitigation of pyrethroid-associated runoff. *Environ.Toxicol. Chem.* 24, 2121-2127.
- Billings, R.F., Clarke, S.R., Espino-Mendoza, V., Cerdón-Cabrera, P., Meléndez-Figueroa, B., Ramón-Campos, J., Baeza, G., 2004. Gorgojo descortezador e incendios: Una combinación devastadora para los pinares de América Central. *Unasylva*, 217, 15-21.
- Boronat, L., Miracle, M.R., Armengol, X., 2001. Cladoceran assemblages in a mineralization gradient. *Hydrobiologia*, 442, 75-88.
- Bradbury, S.P. Coats, J.R., 1989. Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides. *Rev. Environ. Toxicol. Contam.* 108, 143-177.
- Bradbury, S.P., D.M. Symonik, Coats, J.R. Atchison, G.J., 1987. Toxicity of fenvalerate and its constituent isomers to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) and bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 38, 727-735.
- Brown, M.S., Adesso, K.M., Baysal-Gurel, F., Youssef, N.N., Oliver, J.B., 2020. Permethrin Residual Activity Against Ambrosia Beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) Attacks Following Field Aging and Simulated Rainfall Weathering. *J. Econ. Entomol.* 113, 2418–2426. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa186>

- Byers, J.A., 1995. Host-tree chemistry affecting colonization in bark beetles. In Chemical ecology of insects 2 Springer, Boston, MA. pp. 154-213. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1765-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1765-8_5).
- Calderón-Garcidueñas, A.L., Waliszewski, S.M., Ruiz-Ramos, R., Martínez-Valenzuela, M., 2018. Time trend tendency (1988–2014 years) of organochlorine pesticide levels in the adipose tissue of Veracruz inhabitants. Environ. Monit. Assess. 190, 206. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6581-y>.
- Carlson, G.A., Wetzstein, M.E., 1993. Firm decisions and behavior in pest management on a regional level. In 'Agricultural and environmental resource economics'. (Eds GA Carlson, D Zilberman, JA Miranowski), pp. 273–288.
- Chapa, B.D., Sosa, J. Alba, A.A., 2008. Estudio multitemporal de fragmentación de los bosques en la sierra Fría, Aguascalientes, México. Madera y Bosques, 14, 37–51.
- Chernaki-Leffer, A.M., Sosa-Gómez, D.R., Almeida, L.M., Lopes, I.D.O.N., 2011. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuron in southern Brazil. Rev. Bras. Entomol. 55, 125-128. <https://doi.org/10.1590/S008556262011000100020>.
- Cibrián-Tovar, D., Quiñonez Barraza, S., Quiñonez Favila, S.A. 2015. Manual para la identificación, manejo y monitoreo de insectos descortezadores del Pino (No. 16430). CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). Pp. 48-49.
- Cibrián-Tovar, T.D., Méndez, M., Campos, B.H.O., Yates III, J., Flores, L., 1995. Insectos Forestales de México/Forest insects of México. (COFAN/NAFC) Publicación No. 6. Primera Edición. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. p 266–363.
- Clark, J.M., Matsumura, F., 1982. Two different types of inhibitory effects of pyrethroids on nerve Ca-and Ca+ Mg-ATPase activity in the squid, *Loligo pealei*. Pestic. Biochem. Physiol. 18, 180-190. [https://doi.org/10.1016/0048-575\(82\)90104-3](https://doi.org/10.1016/0048-575(82)90104-3).
- Clark, S.L., Ogle, R.S., Gantner, A., Hall, L.W., Mitchell, G., Giddings, J., Valenti, T., 2015. Comparative sensitivity of field and laboratory populations of *Hyaella azteca* to the

- pyrethroid insecticides bifenthrin and cypermethrin. *Environ. Toxicol. Chem.* 34, 2250–2262. <https://doi.org/10.1002/etc.2907>
- Clasen, B., Loro, V., Murussi, C.R., Tiecher, T., Moraes, B., Zanella, R., 2018. Bioaccumulation and oxidative stress caused by pesticides in *Cyprinus carpio* reared in a rice-fish system. *Sci. Total Environ.* 626, 737–743. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.154>
- Colin, N., Porte, C., Fernades, C., Barata, C., Padrós, F., Carrassón, M., Monroy, M., CanoRocabayera, O., Sostoa, A., Piña, A., Maceda-Veiga, A., 2016. Ecological relevance of biomarkers in monitoring studies of macro-invertebrates and fish in Mediterranean rivers. *Sci. Total Environ.* 540, 307–323. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.099>
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal), 2015. Manual para la identificación, manejo y monitoreo de insectos descortezadores del pino. <http://sivicoff.cnf.gob.mx/> (Fecha de consulta: 3 de Marzo 2020).
- Corcellas, C., Andreu, A., Máñez, M., Sergio, F., Hiraldo, F., Eljarrat, E., Barceló, D. 2017. Pyrethroid insecticides in wild bird eggs from a World Heritage Listed Park: A case study in Doñana National Park (Spain). *Environ. Pollut.* 228, 321–30. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.035>
- Corcellas, C., Eljarrat, E., Barceló, D., 2015. First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: A case study in Iberian river basins (Spain). *Environ. Int.* 75, 110–116. <https://doi:10.1016/j.envint.2014.11.007>.
- Damalas, C.A., Eleftherohorinos, I.G., 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 8, 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>
- Degenhardt, D.C., Greene, J.K., 2012. Influence of pyrethroid pesticide formulation on volatile emissions from cotton, *Gossypium hirsutum* L., leaves. *J. Agric. Urban Entomol.* 28, 8–15. <https://doi.org/10.3954/1523-5475-28.1.8>

- DeGomez, T.E., Hayes, C.J., Anhold, J.A., McMillin, J.D., Clancy, K.M., Bosu, P.P., 2006. Evaluation of Insecticides for Protecting Southwestern Ponderosa Pines from Attack by Engraver Beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *J. Econ. Entomol.* 99, 393–400. doi:10.1093/jee/99.2.393.
- Delgado-Moreno, L., Lin, K., Veiga-Nascimento, R., Gan, J., 2011. Occurrence and toxicity of three classes of insecticides in water and sediment in two southern California coastal watersheds. *J. Agric. Food Chem.* 59, 9448–9456. <https://doi.org/10.1021/jf202049s>.
- Dicke, M. Sabelis, M.W., 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Functional Ecology.* 2, 131–139.
- Domagalski, J.L., Weston, D.P., Zhang, M., Hladik, M., 2010. Pyrethroid insecticide concentrations and toxicity in streambed sediments and loads in surface waters of the San Joaquin Valley, California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 813–823. <https://doi.org/10.1002/etc.106>
- Du, M., Lin, L., Yan, C., Wang, C., Zhang, X., 2013. Enantiomer-specific bioaccumulation and depuration of hexabromocyclododecanes in zebrafish (*Danio rerio*). *J. Hazard. Mater.* 248, 167–171. <https://doi:10.1016/j.jhazmat.2012.12.046>.
- Dumont, H.J., 1983. Biogeography of rotifers. In *Biology of Rotifers* Springer, Dordrecht. pp. 19-30.
- Dyer, E.D.A., Hall, P.M., 2019. Effect of anti-aggregative pheromones 3, 2-MCH and trans-verbenol on *Dendroctonus rufipennis* attacks on spruce stumps. *J. Ent. Soc. Br. Columb.* 74, 32-34.
- Elliott, M., Janes, N.F., Potter, C., 1978. The future of pyrethroids in insect control. *Annu. Rev. Entomol.* 23, 443–469. <https://doi:10.1146/annurev.en.23.010178.002303>
- Ensley, S.M., 2018. Pyrethrins and pyrethroids. In *Veterinary toxicology*, Academic Press, pp. 515–520. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00039-8>.
- EPI Suite v.4.1136. Tools, E.A., 2011. Models, Estimation Program Interface (EPI) Suite, version 4.1. Exposure Assessment Branch, US Environmental Protection Agency: Washington, DC.

- Erbilgin, N., 2019. Phytochemicals as mediators for host range expansion of a native invasive forest insect herbivore. *New Phytol.* 221, 1268–1278. doi:10.1111/nph.15467.
- Ernst, F., Alonso, B., Colazzo, M., Pareja, L., Cesio, V., Pereira, A., Márquez, A., Errico, E., Segura, A., Heinzen, H., Pérez-Parada, A., 2018. Occurrence of pesticide residues in fish from South American rainfed agroecosystems. *Sci. Total Environ.* 631/632, 169-179. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.320>.
- Escher, B.I., Cowan-Ellsberry, C.E., Dyer, S., Embry, M.R., Erhardt, S., Halder, M., Nichols, J., 2011. Protein and lipid binding parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) blood and liver fractions to extrapolate from an in vitro metabolic degradation assay to in vivo bioaccumulation potential of hydrophobic organic chemicals. *Chem. Res. Toxicol.* 24, 1134-1143.
- Fang, R., Jiang, C.H., Wang, X.Y., Zhang, H.M., Liu, Z.L., Zhou, L. Deng, Z.W., 2010. Insecticidal activity of essential oil of *Carum carvi* fruits from China and its main components against two grain storage insects. *Molecules*, 15, 9391–9402. <https://doi.org/10.3390/molecules15129391>.
- Farrel, B.D., Squeira, A.S., ÓMeara, B.C., Normark, B.B., Chung, J.H., Jordal, B.H., 2001, The evolution of agriculture in beetles (Curculionidae: Scolytinae and Platypodinae). *Evolution*, 55, 2011-2027. doi:10.1111/j.0014-3820.2001.tb01318.x
- Feo, M.L., Ginebreda, A., Eljarrat, E., Barceló, D., 2010. Presence of pyrethroid pesticides in water and sediments of Ebro River Delta. *J. Hydrol.* 393, 156–162. doi:10.1016/j.jhydrol.2010.08.012
- Fettig, C., 2017. Efficacy of SPLAT® Verb for Protecting Individual *Pinus contorta*, *Pinus ponderosa*, and *Pinus lambertiana* from Mortality Attributed to *Dendroctonus ponderosae*. *J. Entomol. Soc. B. C.* 113, 11–20. <https://journal.entsocbc.ca/index.php/journal/article/view/922>.
- Fettig, C.J., Grosman, D.M., Munson, A.S., 2013. Advances in insecticide tools and tactics for protecting conifers from bark beetle attack in the western United States.

- Insecticides: Development of safer and more effective technologies, pp. 472–492. <https://doi.org/10.5772/54178>.
- Fettig, C.J., Hayes, C.J., McKelvey, S.R., Mori, S.L., 2011. Laboratory assays of select candidate insecticides for control of *Dendroctonus ponderosae* Hopkins. *Pest Manag. Sci.* 67, 548–555. doi:10.1002/ps.2094
- Fettig, C.J., Hilszczański, J., 2015. Management strategies for bark beetles in conifer forests. In: Vega, F. E. Hofstetter, R. W., eds. *Bark Beetles: Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. London, Springer, pp. 555–584. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417156-5.00014-9>.
- Finney, D.J., 1952. *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*. 2nd ed. Cambridge University Press, New York, pp 318. <https://doi.org/10.1002/jps.3030411125>.
- Fonseca, G.J., de los Santos-Posadas H., Llanderal, Cibrián-Tovar, C.C., D. Rodríguez, T.D. Vargas, H.J., 2008. Ips e insectos barrenadores en árboles de *Pinus montezumae* dañados por incendios. *Madera y bosques*, 14, 69-80.
- Foote, G., Fettig, C., Ross, D., Runyon, J., Coleman, T., Gaylord, M., Graves, A., McMillin, J., Mortenson, L., Mafra-Neto, A., 2020. A biodegradable formulation of MCH (3-Methylcyclohex-2-en-1-one) for protecting *Pseudotsuga menziesii* from *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera: Curculionidae) colonization. *J. Econ. Entomol.* (Paginación no disponible). <https://doi.org/10.1093/jee/toaa061>.
- Forró, L., Korovchinsky, N.M., Kotov, A.A., Petrussek, A., 2007. Global diversity of cladocerans (Cladocera; Crustacea) in freshwater. In *Freshwater animal diversity assessment*, pp. 177-184.
- Franceschi, V.R., Krokene, P., Christiansen, E., Krekling, T., 2005. Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. *New Phytol.* 167, 353–376. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x>.
- Friberg-Jensen, U., Wendt-Rasch, L., Woin, P., Christoffersen, K., 2003. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field

- conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquat. Toxicol.* 63, 357–371. [https://doi:10.1016/s0166-445x\(02\)00201-1](https://doi:10.1016/s0166-445x(02)00201-1).
- Gan, J., Lee, S.J., Liu, W.P., Haver, D.L., Kabashima, J.N., 2005. Distribution and Persistence of Pyrethroids in Runoff Sediments. *J. Environ. Qual.* 34, 836–841. doi:10.2134/jeq2004.0240.
- Garza-León, C.V., Arzate-Cárdenas, M.A., Rico-Martínez, R., 2017. Toxicity evaluation of cypermethrin, glyphosate, and malathion, on two indigenous zooplanktonic species. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 18123–18134. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9454-y>.
- Gevao, B., Mordaunt, C., Semple, K.T., Pearce, T.G., Jones, K.C., 2001. Bioavailability of nonextractable (bound) pesticide residues to earthworms. *Environ. Sci. Technol.* 35, 501–507. <https://doi.org/10.1021/es000144d>
- Gibson, K.E., 2004. Mountain Pine Beetle Management. Chapter 4.2. Forest insect and disease management guide for the northern and central Rocky Mountains. USDA Forest Service, Northern Region, State and Private Forestry. [http://www.fs.fed.us/r1-r4/spf/fhp/mgt\\_guide/index.htm](http://www.fs.fed.us/r1-r4/spf/fhp/mgt_guide/index.htm) (Fecha de consulta: 08 de Mayo 2020).
- Gillette, N.E., Mehmel, C.J., Webster, J.N., Mori, S.R., Erbilgin, N., Wood, D.L., Stein J.D., 2009. Aerially applied MCH-releasing flakes protect *Pseudotsuga menziesii* stands from attack by *Dendroctonus pseudotsugae*. *For. Ecol. Manag.* 257, 1231–1236. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.11.037>.
- Giunta, A.D., Jenkins, M.J., Hebertson, E.G., Munson, A.S., 2016. Disturbance agents and their associated effects on the health of interior Douglas-fir forests in the central Rocky Mountains. *Forests.* 7, 80. <https://doi.org/10.3390/f7040080>.
- Gobas, F.A.P.C., Morrison, H.A., 2000. Bioconcentration and biomagnification in the aquatic environment. In: Boethling, R.S., Mackay, D. (Eds.), *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals: Environmental and Health S.B. Gewurtz et al./Chemosphere 63 (2006) 1328–1341 1339 Sciences*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 189– 231.

- Graham, E.E., Storer, A.J., 2011. Interrupting the response of *Dendroctonus simplex* LeConte (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) to compounds that elicit aggregation of adult beetles. Michigan Entomol. Soc. 44, 53.
- Grube. A., Donaldson, D., Kiely, T., 2011. Pesticides industry sales and usage – 2006 and 2007 market estimates, U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Washington. [https://swap.stanford.edu/20140417081610/http://www.epa.gov/opp00001/pestsales/07pestsales/market\\_estimates2007.pdf](https://swap.stanford.edu/20140417081610/http://www.epa.gov/opp00001/pestsales/07pestsales/market_estimates2007.pdf). (Fecha de consulta: 13 de agosto 2019).
- Hansen, E.M., Munson, A. S., Wakarchuk, D., Blackford, D.C., Graves, A.D., Stephens, S. S., Moan, J.E., 2019. Advances in semiochemical repellents to mitigate host mortality from the spruce beetle (Coleoptera: Curculionidae). J. Econ. Entomol. 112, 2253–2261. <https://doi.org/10.1093/jee/toz172>.
- Harwood, A.D., Landrum, P.F., Lydy, M.J., 2013. Bioavailability-based toxicity endpoints of bifenthrin for *Hyaella azteca* and *Chironomus dilutus*. Chemosphere, 90, 1117–1122. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.09.017
- Hernández-Flores, S., Rico-Martínez, R., 2006. Study of the effects of Pb and hg toxicity using a chronic toxicity reproductive 5-day test with the freshwater rotifer *Lecane quadridentata*. Environ. Toxicol. 21, 533–540. <https://doi.org/10.1002/tox.20218>.
- Hernández-Ruiz, E., Alvarado-Flores, J., Rubio-Franchini, I., Ventura-Juárez, J., Rico-Martínez, R., 2016. Adverse effects and bioconcentration of chromium in two freshwater rotifer species. Chemosphere. 158, 107-115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.067>.
- Holcombe, G.W., Phipps, G.L., Tanner, D.K., 1982. The acute toxicity of kelthane, dursban, disulfoton, pydrin, and permethrin to fathead minnows (*Pimephales promelas*) and rainbow trout *Salmo gairdneri*. Environ. Pollut. Series A, Ecological and Biological, 29, 167-178.
- Howse P.E., Stevens I.D.R., Jones O.T., 1998. Insect Pheromones and Their Use in Pest Management, (eds), Chapman and Hall, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne & Madras. p 369.

- Huang, J., Kautz, M., Trowbridge, A.M., Hammerbacher, A., Raffa, K.F., Adams, H.D., Gershenzon, J., 2020. Tree defense and bark beetles in a drying world: carbon partitioning, functioning and modelling. *New Phytol.* 225, 26–36. <https://doi.org/10.1111/nph.16173>.
- Huber, D.P.W., Borden, J.H., 2001. Protection of lodgepole pines from mass attack by mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae*, with nonhost angiosperm volatiles and verbenone. *Entomol. Exp. Appl.* 99, 131-141.
- Hunt, D.W.A., Borden, J.H., Lindgren, B.S., Gries, G., 1989. The role of autoxidation of  $\alpha$ -pinene in the production of pheromones of *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae). *Can. J. For. Res.* 19, 1275-1282.
- Ismail, A.H., Zaidin, S.A., 2015. A comparative study of zooplankton diversity and abundance from three different types of water body. In Proceedings of 2nd international conference on agriculture, environment and biological sciences (ICAEBs'15). Bali, Indonesia, pp. 37-41.
- Jones, D. 1995. Environmental fate of cypermethrin. Environmental Monitoring and Pest Management. Department of Pesticide Regulation Sacramento, CA. 95814-3510.
- Kallaji, M. 1990. Mosquito/black fly adulticide (Brand Name Scourge) proposed for aerial spray applications in the Adirondack Park. Memorandum, New York Department of Law and Environmental Protection Bureau, I 6761.
- Katagi, T., 2010. Bioconcentration, Bioaccumulation, and Metabolism of Pesticides in Aquatic Organisms. In: Whitacre D. (eds) Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology (Continuation of Residue Reviews), vol 204. Springer, New York, NY, pp. 1–132. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1440-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1440-8_1).
- Katagi, T., 2011. Environmental Behavior of Synthetic Pyrethroids. In Pyrethroids. Topics in Current Chemistry. Vol 314, Springer, Berlin, Heidelberg, pp 167–202. [https://doi.org/10.1007/128\\_2011\\_255](https://doi.org/10.1007/128_2011_255).

- Kim, J., Gobas, F.A., Arnot, J.A., Powell, D.E., Seston, R.M., Woodburn, K.B., 2016. Evaluating the roles of biotransformation, spatial concentration differences, organism home range, and field sampling design on trophic magnification factors. *Sci. Total Environ.* 551, 438-451.
- Kingsbury., Kreuzweiser., 1980. Dosage–effect Studies on the Impact of Permethrin on Trout Streams. Forest Pest Management Institute Report FPNI-X-31, Sault Ste. Marie, Ontario, Canada, p. 109. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810586706> (Fecha de consulta: 03 de Marzo 2020).
- Kinzer, G.W., Fentiman, A.F., Foltz, R.L., Rudinsky, J.A., 1971. Bark beetle attractants: 3-methyl-2-cyclohexen-1-one isolated from *Dendroctonus pseudotsugae*. *J. Econ. Entomol.* 64, 970–971. <https://doi.org/10.1093/jee/64.4.970>.
- Kranthi, K.R, Jadhav, D., Wanjari, R., Kranthi, S., Russell, D., 2001. Pyrethroid resistance and mechanisms of resistance in field strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 94, 253-263.
- Landaverde-Toruño, R.A.L., 2001. Los escarabajos descortezadores del género *Dendroctonus* Erickson plaga de las pináceas en Centro América. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria, Dirección Técnica de Sanidad Vegetal. San Salvador, El Salvador. P 31. <http://www.fao.org/forestry/7039-07aceb500d412a80f01807b5b537d2697.pdf>
- Laskowski, D.A., 2002. Physical and Chemical Properties of Pyrethroids. In: Ware G.W. (eds) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology (Continuation of Residue Reviews)*, vol 174. Springer, New York, NY. pp 49–170. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4260-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-4260-2_3)
- Law, J.H., Regnier, F.E., 1971. Pheromones. *Annu. Rev. Biochem.* 40, 533–548.
- Li, L., Yang, D., Song, Y., Shi, Y., Huang, B., Yan, J., Dong, X., 2017. Effects of bifenthrin exposure in soil on whole-organism endpoints and biomarkers of earthworm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 168, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.060>

- Liu, P., Liu, Y., Liu, Q., Liu, J., 2010. Photodegradation mechanism of deltamethrin and fenvalerate. *J. Environ. Sci.* 22, 1123–1128. [https://doi:10.1016/s1001-0742\(09\)60227-8](https://doi:10.1016/s1001-0742(09)60227-8).
- Liu, W., Gan, J.J., 2004. Determination of Enantiomers of Synthetic Pyrethroids in Water by Solid Phase Microextraction – Enantioselective Gas Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 52, 736–741. doi:10.1021/jf035276f
- Liu, W., Gan, J.J., Lee, S., Kabashima, J.N., 2004. Phase distribution of synthetic pyrethroid in runoff and stream water. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 7–11. <https://doi.org/10.1897/03-183>.
- Liu, Z., Xu, B., Miao, Z., Sun, J., 2013. The pheromone frontalin and its dual function in the invasive bark beetle *Dendroctonus valens*. *Chem. Senses*, 38, 485-495.
- Liu, Z., Zhang, L., Shi, Z., Wang, B., Tao, W. Q., Sun, J., 2008. Colonization patterns of the red turpentine beetle, *Dendroctonus valens* (Coleoptera: Curculionidae), in the Luliang Mountains, China. *Insect Sci.* 15, 349–354. doi:10.1111/j.1744-7917.2008.00220.x.
- Lukowicz-Ratajczak, J., Krechniak, J., 1992, Effects of deltamethrin on the immune system in mice. *Environ. Res.* 59, 467–475. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(05\)80049-0](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(05)80049-0)
- Lutnicka, H., 1999. Degradation of pyrethroids in an aquatic ecosystem model. *Water Res.* 33, 3441–3446. [https://doi:10.1016/s0043-1354\(99\)00054-8](https://doi:10.1016/s0043-1354(99)00054-8).
- Maes, J.M., 1992. Lista de los Lucanidae (Coleoptera) del Mundo. *Rev. Nicar. Entomol. (B)*, 22, 1–121.
- Maguire, R.J., Carey, J.H., Hart, J.H., Tkacz, R.J., Lee, H.B., 1989. Persistence and fate of deltamethrin sprayed on a pond. *J. Agric. Food Chem.* 37, 1153–1159. <https://doi.org/10.1021/jf00088a074>.
- Manar, R., Bessi, H., Vasseur, P., 2009. Reproductive effects and bioaccumulation of chlordane in *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 28, 2150–2159. <https://doi.org/10.1897/08-564.1>.

- McCarty, L.S., 1986. The relationship between aquatic toxicity QSARs and bioconcentration for some organic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 5, 1071–1080. <https://doi.org/10.1002/etc.5620051207>.
- McCarty, L.S., 1987. Relationship between toxicity and bioconcentration for some organic chemicals. I. Examination of the relationship. In: Kaiser K.L.E. (eds) *QSAR in environmental Toxicology-II*. Springer, Dordrecht, pp. 207–220. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-3937-0\\_16](https://doi.org/10.1007/978-94-009-3937-0_16).
- McFarlane, B.L., Stumpf-Allen, R.C.G., Watson, D.O., 2006. Public perceptions of natural disturbance in Canada's national parks: The case of the mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae* Hopkins). *Biological Conservation*, 130, 340–348. doi:10.1016/j.biocon.2005.12.029.
- McGregor, M.D., M.M., Furniss, R.D., Oakes, K.E., Gibson, Meyer, H.E., 1984. MCH pheromone for preventing Douglas-fir beetle infestation in windthrown trees. *J. For.* 82, 613–616.
- McLeese, D.W., Metcalfe, C.D., Zitko, V., 1980. Lethality of permethrin, cypermethrin, and fenvalerate to salmon, lobster and shrimp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25, 950–955.
- Meddens, A.J.H., Hicke, J.A., 2014. Spatial and temporal patterns of Landsat-based detection of tree mortality caused by a mountain pine beetle outbreak in Colorado, USA. *For. Ecol. Manag.* 322, 78–88. doi:10.1016/j.foreco.2014.02.037
- Mestres, R., Mestres, G., 1992. Deltamethrin: Uses and Environmental Safety. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1–18. doi:10.1007/978-1-4612-2864-6\_1.
- Miller, M.C., Moser, J.C., McGregor, M., Gregoire, J.C., Baisier, M., Dahlsten, D.L., Werner, R.A., 1987. Potential for biological control of native North American *Dendroctonus* beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 80, 417–428.
- Millow, C.J, Mackintosh, S.A, Lewison, R.L, Dodder, N.G, Hoh, E., 2015. Identifying Bioaccumulative Halogenated Organic Compounds Using a Nontargeted Analytical

Approach: Seabirds as Sentinels. PLoS ONE. 10, e0127205.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127205>

Morrissey, C.A., Albert, C.A., Dods, P.L., Cullen, W.R., Lai, V.W.M., Elliott, J.E., 2007. Arsenic Accumulation in Bark Beetles and Forest Birds Occupying Mountain Pine Beetle Infested Stands Treated with Monosodium Methanearsonate. Environ. Sci. Technol. 41, 1494–1500. doi:10.1021/es061967r

Moser, J.C., Fitzgibbon, B.A., Klepzig, K.D., 2005. The Mexican pine beetle, *Dendroctonus maxicanus*: first recorded in the United States and co-occurrence with the southern pine beetle-*Dendroctonus frontalis* (coleoptera: Scolytidae or curculionidae: scolytinae). Entomol. News, 116, 235–243. <https://www.fs.usda.gov/treesearch/pubs/21320>

Muggelberg, L.L., Hartz, K.E.H., Nutile, S.A., Harwood, A.D., Heim, J.R., Derby, A.P., Lydy, M.J., 2017. Do pyrethroid-resistant *Hyalella Azteca* have greater bioaccumulation potential compared to non-resistant populations? Implications for bioaccumulation in fish. Environ. Pollut. 220, 375–382.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.073>.

Nichols, H.W., 1973. Growth media-freshwater. In: Stein, J.R. (Ed.), Handbook of Physiological Methods II. Cambridge University Press, New York, pp. 7-24.

Nordlund, D.A., Lewis, W.J., 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. J. Chem. Ecol. 2, 211–220.

OECD, 2012a. Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris.  
<https://doi.org/10.1787/9789264185203-en>.

OECD, 2012b. Test No. 305: Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3, OECD Publishing, Paris.  
<https://doi.org/10.1787/9789264185296-en>.

Osorio-Treviño, O.C., Arzate-Cárdenas M.A., Rico-Martínez R., 2019. Energy budget in *Alona guttata* (Chydoridae: Aloninae) and toxicant-induced alterations. J. Environ. Sci. Health A. 54, 398–929. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1558901>.

- Pawlisz, A.V., Busnarda, J., McLauchlin, A., Caux, P.Y., Kent, R.A., 1998. Canadian water quality guidelines for deltamethrin. *Environ. Toxic. Water Qualit.* 13, 175–210. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2256\(1998\)13:3<175::aid-tox1>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2256(1998)13:3<175::aid-tox1>3.0.co;2-4).
- Pendleton, F.N., Baldwin, A.H., 2007. The effects of spraying deltamethrin for tsetse fly control on insectivorous bird populations in the Okavango Delta, Botswana. *Afr. J. Ecol.* 45, 566–576.
- Perez-Legaspi, I.A., Rico-Martínez, R., 1998. Effect of temperature and food concentration in two species of littoral rotifers. *Hydrobiologia.* 387/388, 341–348. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1017099906853>.
- Perez-Legaspi, I.A., Rico-Martínez, R., 2001. Acute toxicity tests on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta). *Hydrobiologia* 446, 375–381. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1017531712808>.
- Pham, H.C., Navarro-Delmasure, C., 1984. Toxicological studies of deltamethrin. *International Journal of Tissue Reactions.* 6, 127–133.
- Qin, W.X., Yan, D.Y., Wang, C.G., Xu, S.H., 2011. Research on the fate and biological effects of pyrethroids in sediment. *Soils*, 43, 703–709.
- Reeve, J.D., Anderson, F.E., Kelley, S.T., 2012. Ancestral state reconstruction for *Dendroctonus* bark beetles: evolution of a tree killer. *Environ. Entomol.* 41, 723–730. <https://doi.org/10.1603/EN11281>
- Riaz, G., Tabinda, A.B., Kashif, M., Yasar, A., Mahmood, A., Rasheed, R., Mahfooz, Y., 2018. Monitoring and spatiotemporal variations of pyrethroid insecticides in surface, water, sediment, and fish of the river Chenab Pakistan. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 22584–22597. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1963-9>.
- Richterová, Z., Máchová, J., Stará, A., 2014. Effects of Cyhalothrin-Based Pesticide on Early Life Stages of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Bio Med Research International.* Article ID 107373, doi:10.1155/2014/107373.

- Ridgway, R.L., Silverstein, R.M., Inscoc, M.N., 1990. Behavior Modifying Chemicals for Insect Management: Applications of Pheromones and Other Attractants, (eds), Marcel Dekker, Inc New York & Basel. Pp 761.
- Rinkevich, F.D., Du, Y., Dong, K., 2013. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pestic. Biochem. Physiol.* 106, 93-100.
- Rios-Reyes, A.V., Valdez-Carrasco, J., Equihua-Martínez, A., Moya-Raygoza, G., 2008. Identification of *Dendroctonus frontalis* (Zimmermann) and *D. mexicanus* (Hopkins) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) Through Structures of the Female Genitalia, *The Coleopterists Bulletin* 62, 99–103. <https://doi.org/10.1649/1048.1>
- Rivera-Dávila, O.L., Sánchez-Martínez, G., Rico-Martínez, R., 2021. Ecotoxicity of pesticides and semiochemicals used for control and prevention of conifer bark beetle (*Dendroctonus* spp.) outbreaks, *Chemosphere*, 263, 128375. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128375>.
- Ross, D.W., Daterman, G.E., 1995. Efficacy of an antiaggregation pheromone for reducing Douglasfir beetle. *Dendroctonus pseudosugae* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae). infestation of high risk stands. *Can. Entomol.*127, 805–811.
- Rossi, A.S., Fantón, N., Michlig, M.P., Repetti, M.R., Cazenave, J., 2020. Fish inhabiting rice fields: Bioaccumulation, oxidative stress and neurotoxic effects after pesticides application. *Ecol. Indic.* 113, 106186. doi:10.1016/j.ecolind.2020.106186
- Sabater, F., 1987. On the interstitial Cladocera of the River Ter (Catalonia, NE Spain), with a description of the male of *Alona phreatica*. *Hydrobiologia*, 144, 51–62.
- Sadowska-Woda, I., Popowicz, D., Karowicz-Bilińska, A., 2010. Bifenthrin-induced oxidative stress in human erythrocytes in vitro and protective effect of selected flavonols. *Toxicol. In Vitro*, 24, 460–464. <https://doi:10.1016/j.tiv.2009.09.024>.
- Saeed, S., Masood, A., Sayyed, A.H., Kwon, Y.J., 2011. Comparative efficacy of different pesticides against mango bark beetle *Hypocryphalus mangiferae* Stebbing (Coleoptera: Scolytidae). *Entomol. Res.* 41, 142–150. doi:10.1111/j.1748-5967.2011.00329.x

- Saeng-Aroon, C., Sanoamuang, L.O., 2002. Species diversity and abundance of Cladocera in Lake Kud-Thing, Nong Khai Province. In 6. BRT Annual Conference, Nakhon Si Thammarat (Thailand), pp 9-12.
- Salinas-Moreno, Y., Ager, A., Vargas, C.F., Hayes, J.L., Zúñiga, G., 2010. Determining the vulnerability of Mexican pine forests to bark beetles of the genus *Dendroctonus* Erichson (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). For. Ecol. Manag. 260, 52–61. doi:10.1016/j.foreco.2010.03.029.
- Salinas-Moreno, Y., Mendoza, M.G., Barrios, M.A., Cisneros, R., Macias-Samano, J., Zuniga, G., 2004. Areography of the genus *Dendroctonus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Mexico. J. Biogeogr. 31, 1163–1177. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2004.01110.x>
- Sánchez, M.G., 2004. Diagnóstico fitosanitario de los bosques de pino, pino-encino y encino-pino en la sierra Fría, Aguascalientes. Aguascalientes, Aguascalientes: INIFAP. Campo Experimental de Pabellón de Arteaga.
- Sánchez-Fortún, S., Barahona, M.V., 2005. Comparative study on the environmental risk induced by several pyrethroids in estuarine and freshwater invertebrate organisms. Chemosphere. 59, 553–559. <https://doi:10.1016/j.chemosphere.2004.12.023>.
- Sánchez-Martínez, G., Wagner, M.R., 2009. Host preference and attack pattern of *Dendroctonus rhizophagus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae): a bark beetle specialist on pine regeneration. Environ. Entomol. 38, 1197–1204.
- Sancho, E., Villarroel, M.J., Andreu, E., Ferrando, M.D., 2009. Disturbances in Energy Metabolism of *Daphnia magna* after Exposure to Tebuconazole. Chemosphere. 74, 1171–1178. <https://doi:10.1016/j.chemosphere.2008.11.076>.
- Sayed, S., Parvez, S., Pandey, B., Hafeez, R., Haque, S., Rai, S., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. Ecotoxicol. Environ. Saf. 56, 295–301.
- SC, 2008. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. <http://chm.pops.int/>. (Fecha de consulta: 05 de Agosto 2019).

- Schmidt-Nielsen, K., 1997. Animal physiology: adaptation and environment. Cambridge University Press, p. 301.
- Scollon, E.J., Starr, J.M., Godin, S.J., DeVito, M.J., Hughes, M.F., 2009. In vitro metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome p450 isoforms. *Drug. Metab. Dispos.* 37, 221–228. <https://doi.org/10.1124/dmd.108.022343>
- Segers, H., 2007. Global diversity of rotifers (Rotifera) in freshwater. In: Balian E.V., Lévêque C., Segers H., Martens K. (eds) Freshwater Animal Diversity Assessment. *Dev. Hydrobiology.* 198, 49–59. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-259-7\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-259-7_6).
- SEMARNAT, 2018. NORMA Oficial Mexicana NOM-019-SEMARNAT-2017, Que establece los lineamientos técnicos para la prevención, combate y control de insectos descortezadores. *Diario Oficial de la Federación, México.* 22 de Marzo de 2018. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5516918&fecha=22/03/2018](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5516918&fecha=22/03/2018). (Fecha de consulta: 08 Junio 2020).
- Seybold, S.J., Bentz, B.J., Fettig, C.J., Lundquist, J.E., Progar, R.A., Gillette, N.E., 2018. Management of western North American bark beetles with semiochemicals. *Annu. Rev. Entomol.* 63, 407–432. <https://doi:10.1146/annurev-ento-020117-043339>.
- Shahid, N., Becker, J.M., Krauss, M., Brack, W., Liess, M., 2018. Pesticide Body Burden of the Crustacean *Gammarus pulex* as a Measure of Toxic Pressure in Agricultural Streams. *Environ. Sci. Technol.* 52, 7823–7832. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01751>.
- Sharifzadeh, M.S., Abdollahzadeh, G., Damalas, C.A., Rezaei, R., 2018. Farmers' criteria for pesticide selection and use in the pest control process. *Agriculture.* 8, 24. <https://doi.org/10.3390/agriculture8020024>.
- Sharma, B.K., Sharma, S., 2011. Faunal diversity of Cladocera (Crustacea: Branchiopoda) of Nokrek Biosphere Reserve, Meghalaya, northeastern India. *J. Threat. Taxa,* 2120-2127.

- Shen, M.F., Kumar, A., Ding, S.Y., Grocke, S., 2012. Comparative study on the toxicity of pyrethroids,  $\alpha$ -cypermethrin and deltamethrin to *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 78, 9–13. doi:10.1016/j.ecoenv.2011.07.018
- Sinev, A.Y., Silva-Briano, M., 2012. Cladocerans of genus *Alona* Baird, (Cladocera: Anomopoda: Chydoridae) and related genera from Aguascalientes State, Mexico. *Zootaxa*. 3569, 1-24. <https://doi:10.11646/zootaxa.3569.1.1>.
- Six, D.L., Bracewell, R., 2015. Dendroctonus. In: Vega, F.E. and R.W. Hofstetter (Eds.). *Bark Beetles: Biology and Ecology of Native and Invasive Species*. Elsevier Inc, USA, pp. 305–350. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417156-5.00008-3>
- Skrzecz, I., Grodzki, W., Kosibowicz, M., Tumialis, D., 2015. The alpha-cypermethrin coated net for protecting Norway spruce wood against bark beetles (Curculionidae, Scolytinae). *J. Plant Prot. Res.* 55, 156–161. <https://doi.org/10.1515/jppr-2015-0020>.
- Smalling, K.L, Kuivila, K.M., Orlando J.L., Phillips, B.M., Anderson, B.S., Siegler, K., Hamilton, M., 2013. Environmental fate of fungicides and other current-use pesticides in a central California estuary. *Mar Pollut. Bull.* 73, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.05.028>.
- Soderlund, D.M., 2010. Toxicology and mode of action of pyrethroid insecticides. Hayes' handbook of pesticide toxicology, 2, 1665–1686.
- Soderlund, D.M., 2012. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Arch. Toxicol.* 86, 165-181.
- Song, Y., Kai, J., Song, X., Zhang, W., Li, L., 2015. Long-term toxic effects of deltamethrin and fenvalerate in soil. *J. Hazard. Mater.* 289, 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.057>
- StatSoft, Inc, 2004. STATISTICA (Data Analysis Software System) version 5. <https://www.statsoft.com>.
- Starr, J.M., Scollon, E.J., Hughes, M.F., Ross, D.G., Graham, S.E., Crofton, K.M., Tornero-Velez, R., 2012. Environmentally relevant mixtures in cumulative assessments: an

acute study of toxicokinetics and effects on motor activity in rats exposed to a mixture of pyrethroids. *Toxicol. Sci.* 130, 309-318.

Stephenson, R.R., 1982. Aquatic toxicology of cypermethrin. I. Acute toxicity to some freshwater fish and invertebrates in laboratory tests. *Aquat. Toxicol.* 2, 175-185.

Stock, M.W., Guenther, J.D., 1979. Isozyme variation among mountain pine beetle (*Dendroctonus ponderosae*) populations in the Pacific Northwest. *Environ. Entomol.* 8, 889–893.

Stone, C., Simpson, J.A., 1987. Influence of *Ips grandicollis* on the incidence and spread of bluestain fungi in *Pinus elliottii* billets in north-eastern New South Wales. *Aust. For.* 50, 86–94. doi:10.1080/00049158.1987.10674500.

Strom, B.L., Roton, L.M., 2009. A small-bolt method for screening tree protectants against bark beetles (Coleoptera: Curculionidae). *J. Entomol. Sci.* 44, 297–307. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-44.4.297>

Symonik, D.M., Coats, J.R., Bradbury, S.P., Atchison, G.J., Clark, J.M., 1989. Effect of fenvalerate on metabolic ion dynamics in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) and bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42, 821–828. <https://doi.org/10.1007/BF0170162>.

Trân, J.K., Ylloja, T., Billings, R.F., Régnière, J., Ayres, M.P., 2007. Impact of minimum winter temperatures on the population dynamics of *Dendroctonus frontalis*. *Ecol. Appl.* 17, 882–899. <https://doi.org/10.1890/06-0512>.

Tu, W., Lu, B., Niu, L., Xu, C., Lin, C., Liu, W., 2014. Dynamics of uptake and elimination of pyrethroid insecticides in zebrafish (*Danio rerio*) eleutheroembryos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 107, 186–191. <https://doi:10.1016/j.ecoenv.2014.05.013>.

Tu, W., Xu, C., Lu, B., Lin, C., Wu, Y., Liu, W., 2016. Acute exposure to synthetic pyrethroids causes bioconcentration and disruption of the hypothalamus–pituitary–thyroid axis in zebrafish embryos. *Sci. Total Environ.* 542, 876–885. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.10.131

- U.S. EPA, 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. EPA-600/4-85-013, U.S.A. Environmental Protection Agency, Washington D.C., U.S.A.
- U.S. EPA, 2012. Estimation Programs Interface Suite™ for Microsoft® Windows, v 4.11. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA. <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface> (Fecha de consulta: 15 febrero 2020).
- USDA–Forest Service U.S. Department of Agriculture– Forest Service. 2000. VERBENONE. Human Health and Ecological Risk Assessment FINAL REPORT. 2000. Task No. 25. USDA/FS Contract No. 53-3187-5-12. USDA/FS Order No. 43-3187-0-0116.
- USDA–Forest Service U.S. Department of Agriculture– Forest Service. 1999. 3-Methylcyclohexen-1-one (MCH) - Human Health and Ecological Risk Assessment FINAL REPORT, 1999.
- Van Damme, K., Eggermont, H., 2011. The Afromontane Cladocera (Crustacea: Branchiopoda) of the Rwenzori (Uganda–DR Congo): taxonomy, ecology and biogeography. *Hydrobiologia*, 676, 57.
- Van der Heijden, S.A., Hermens, J.L., Sinnige, T.L., Mayer, P., Gilbert, D., Jonker, M.T., 2015. Determining high-quality critical body residues for multiple species and chemicals by applying improved experimental design and data interpretation concepts. *Environ. Sci. Technol.* 49, 1879–1887. <https://doi.org/10.1021/es505078r>
- Vengayil, D.T., Singh, J., Singh, A.L., Das, V.K., Singh, P.B., 2011. Bioaccumulation of carbamate and pyrethroid insecticides in fishes of the river Gomti at Jaunpur during breeding season. *J. Ecophysiol. Occup. Health*, 11, 1.
- Victor, J., Zuñiga, G., 2016. Phylogeny of *Dendroctonus* bark beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) inferred from morphological and molecular data. *Syst. Entomol.* 41, 162–177. <https://doi.org/10.1111/syen.12149>.

- Vité, J.P., Baader, E., 1990. Present and future use of semiochemicals in pest management of bark beetles. *J. Chem. Ecol.* 16, 3031-3041.
- Volesky, B., Holan, Z.R., 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.* 11, 235–250. <https://doi:10.1021/bp00033a001>.
- Werner, I., Deanovic, L.A., Hinton, D.E., Henderson, J.D., De Oliveira, G.H., Wilson, B. W., Zalom, F.G., 2002. Toxicity of stormwater runoff after dormant spray application of diazinon and esfenvalerate (Asana®) in a French prune orchard, Glenn County, California, USA. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 68, 29-36.
- Weston, D.P., Holmes, R.W., Lydy, M.J., 2009. Residential runoff as a source of pyrethroid pesticides to urban creeks. *Environ. Pollut.* 157, 287–294. doi:10.1016/j.envpol.2008.06.037
- Weston, D.P., Lydy, M.J., 2012. Stormwater input of pyrethroid insecticides to an urban river. *Environ. Toxicol. Chem.* <https://doi.org/10.1002/etc.1847>
- Weston, D.P., Poynton, H.C., Wellborn, G.A., Lydy, M.J., Blalock, B.J., Sepulveda, M.S., Colbourne, J.K., 2013. Multiple origins of pyrethroid insecticide resistance across the species complex of a nontarget aquatic crustacean, *Hyaella azteca*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 16532–16537.
- WHO, 2005. Safety of pyrethroids for public health use (No. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.10). Geneva: World Health Organization.
- Wilson, C., Tisdell, C., 2001. Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecol. Econ.* 39, 449–462.
- Wood, S.L. 1982. The bark and ambrosia beetle of Northand Central America (Coleoptera: Scolytidae). A taxonomic monograph. *Great Basin Naturalist Memoirs*. Number 6. p 1359.
- Yang, W., Spurlock, F., Liu, W., Gan, J., 2006. Effects of Dissolved Organic Matter on Permethrin Bioavailability to *Daphnia* Species. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3967–3972. <https://doi.org/10.1021/jf060217y>

- Yang, Y., Li, T., Yan, L., Yu, Y., Wang, S., Li, C., Zhao, Y., 2018. Investigation on the relationship between critical body residue and bioconcentration in zebrafish based on bio-uptake kinetics for five nitro-aromatics. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 98, 18–23. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.07.002>.
- Zhan, M.J., 2009. Determination of photochemically-generated reactive oxygen species in natural water. *J. Environ. Sci.* 21, 303–306. [https://doi:10.1016/s1001-0742\(08\)62268-8](https://doi:10.1016/s1001-0742(08)62268-8).
- Zheng, S., Chen, B., Qiu, X., Chen, M., Ma, Z., Yu, X., 2016. Distribution and risk assessment of 82 pesticides in Jiulong River and estuary in South China. *Chemosphere.* 144, 1177–1192. <https://doi:10.1016/j.chemosphere.2015.09.050>.
- Zhou, J., Kang, H.M., Lee, Y.H., Jeong, C.B., Park, J.C., Lee, J.S., 2019. Adverse effects of a synthetic pyrethroid insecticide cypermethrin on life parameters and antioxidant responses in the marine copepods *Paracyclops nana* and *Tigriopus japonicus*. *Chemosphere.* 217, 383–392. <https://doi:10.1016/j.chemosphere.2018.10.217>.
- Zhu, Q., Yang, Y., Zhong, Y., Lao, Z., O'Neill, P., Hong, D., Zhao, S., 2020. Synthesis, insecticidal activity, resistance, photodegradation and toxicity of pyrethroids (A review). *Chemosphere.* 254, 126779. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126779>.
- Zitko, V., McLeese, C.D. Metcalfe, W.C., 1979. Toxicity of permethrin, decamethrin, and related pyrethroids to salmon and lobster. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 21, 338-343.