

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL<sub>50</sub>) DEL  
GLIFOSATO ROUNDUP 747 SG ((NH<sub>4</sub>)C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>P), POR MEDIO DE  
BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA SOBRE *Daphnia pulex*

GISELA PATRICIA PIÑEROS ROJAS  
JAVIER ALBERTO QUINTERO FIERRO

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANTARIA  
BOGOTÁ D.C.  
2008

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA ( $CL_{50}$ ) DEL  
GLIFOSATO ROUNDUP 747 SG ( $(NH_4)C_3H_7NO_5P$ ), POR MEDIO DE  
BIOENSAYOS DE TOXICIDAD ACUÁTICA SOBRE *Daphnia pulex*

GISELA PATRICIA PIÑEROS ROJAS 41012113  
JAVIER ALBERTO QUINTERO FIERRO 41021163

Tesis de Grado para Optar al Título de  
Ingenieros Ambientales y Sanitarios

Director  
PEDRO MIGUEL ESCOBAR MALAVER  
QUIMICO INDUSTRIAL  
LIC. QUIMICA Y BIOLOGIA

UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANTARIA  
BOGOTÁ D.C.  
2008

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

Firma del Director de Tesis

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurad

Bogotá D.C., Octubre de 2008

*A Dios por permitirme alcanzar una meta más en mi vida,  
A mis padres y hermanos por su comprensión,  
apoyo durante la culminación de mis estudios  
y en especial en la elaboración de este  
Trabajo de investigación.  
A mis amigos que fueron de soporte en  
la ejecución de este proyecto.*

*GISELA PIÑEROS.*

*Quiero en primer instante darle gracias a Dios,  
Quien fue la guía más grande en este proceso de aprendizaje.  
A mis padres, que con su apoyo incondicional fueron la inspiración para  
Sacar este proyecto de vida adelante del cual aprendí mucho,  
A mi abuela Mechas, que gracias a su gran cariño hace que luche por  
Lograr mis sueños.  
A mi hermana, por su compañía y consejos valiosos,  
A mi familia y a todos aquellos amigos que de alguna forma me  
Apoyaron durante el transcurso de esta etapa de la vida, Gracias.*

*JAVIER QUINTERO.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores desean expresar sus agradecimientos a:

Al profesor Pedro Miguel Escobar Malaver, Químico Industrial, director del proyecto de grado, por su colaboración y confianza durante la ejecución de este proyecto.

Ing. Camilo Hernando Guáqueta Rodríguez, Decano de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, por su apoyo y entusiasmo durante los años académicos.

A los profesores de la Universidad de La Salle, quienes transmitieron sus conocimientos, permitiendo convertirnos en profesionales de bien al cuidado y protección del medio ambiente.

Todos nuestros amigos y a las personas que contribuyeron de una u otra manera en el desarrollo de esta investigación.

## GLOSARIO

**ACLIMATACIÓN:** Adaptación de organismos acuáticos a condiciones estandarizadas, experimentales, apropiadas, incluyendo estímulos diversos, cumpliendo así protocolos de ensayos.

**ADYUVANTE:** ingrediente que se añade a una formulación en particular para aumentar la disponibilidad y eficacia del ingrediente activo. A menudo actúan aumentando la distribución, absorción e incorporación de los ingredientes activos.

**AGUA RECONSTITUIDA:** agua preparada con reactivos establecidos, con el fin de generar las condiciones ambientales presentes en los ecosistemas en los cultivos mantenidos en el laboratorio.

**AGUDO:** que ocurre dentro de un periodo corto (minutos, horas o algunos días) en relación con el periodo de vida del organismo de ensayo.

**BIOACUMULACIÓN:** Sustancias que se acumulan en plantas y animales acuáticos, que tienen contacto con aire, agua o alimento contaminado; las grandes concentraciones de sustancias tóxicas en los tejidos debido a lenta metabolización y excreción pueden causar la muerte.

**BIOENSAYOS ACUÁTICOS (pruebas de toxicidad):** Es un método para determinar y evaluar las concentraciones y los efectos tóxicos potenciales que causa un compuesto específico sobre un organismo vivo, mediante la exposición controlada a sustancias puras o combinadas, vertimientos (industriales, municipales y agrícolas) y cuerpos de agua.

**BIOENSAYOS AGUDOS:** Con ellos se miden las concentraciones letales de un agente tóxico en particular.

**BIOTA:** Conjunto de especies de animales, plantas y otros organismos que ocupa un área o lugar determinado.

**CARCINOGENICO:** cualquier compuesto químico que puede originar la formación de lesiones cancerosas. Con frecuencia esto se logra por la formación de mutaciones genéticas de una o varias células lo cual resulta en la pérdida de la habilidad de regular su proliferación.

**CONCENTRACIÓN LETAL (CL):** es la concentración de tóxico estimada que produce la muerte de una proporción específica de los organismos de prueba. Se define como la concentración letal media (CL<sub>50</sub>), que corresponde a la

concertación que mata al 50% de los organismos expuestos en un determinado periodo de tiempo.

**CONCENTRACIÓN LETAL MEDIA (CL<sub>50</sub>):** Concentración del compuesto tóxico que afecta al 50% de la población de la especie modelo, causando su muerte, bajo condiciones de prueba en un tiempo determinado.

**CONCENTRACIÓN:** Cantidad de sustancia aplicada al medio.

**CONTAMINANTE:** Sustancia introducida en el ambiente por actividades humanas, que produce efectos adversos sobre organismos individuales vivos y en el ecosistema.

**CUERPO DE AGUA (Recurso Hídrico):** Defínase como todos los objetos espaciales que se encuentra sobre la superficie terrestre entre ellos mares, lagunas, estuarios, ríos, acuíferos, redes colectoras, etc., excepto alcantarillados.

**DAPHNIA *pulex* (cladóceros):** Crustáceos pequeños, representantes de un eslabón intermedio importante en la cadena alimenticia de productores primarios y peces, sensibles a las sustancias tóxicas presentes en los cuerpos de agua.

**DILUCIÓN:** Disolver cualquier sustancia (compuestos químico o no) en un líquido el cual debe cumplir ciertas características.

**DOSIS:** cantidad de sustancia administrada, expresada en términos de: unidad/peso corporal.

**DUREZA:** Medida de la concentración de iones de calcio y magnesio en el agua, expresada como mg/l de carbonato de calcio.

**ECOSISTEMA ACUÁTICO:** es la unidad funcional básica de interacción de los organismos vivos entre sí y de estos con el ambiente acuático en un espacio y tiempo determinado.

**ECOSISTEMAS ACUÁTICOS:** Comunidad biótica que interactúa con su medio en un cuerpo de agua, conformando un sistema abierto.

**EFEECTO:** cambio biológico, tanto en organismos individuales como a niveles superiores de organización; se relaciona con la exposición a un xenobiótico.

**EFIPIOS:** cápsula protectora, la cual se encuentra en la cámara incubadora de las *Daphnia pulex*, engrosando sus paredes, en ella se desarrollan los machos de esta especie, cuando cambian las condiciones favorables del ambiente o el cultivo. Su característica principal es su color oscuro y se observan dos huevos grandes.

EPA: *Environmental Protection Agency*, Agencia de Protección del Ambiente (en los Estados Unidos, *U.S. EPA*).

ENSAYOS DE TOXICIDAD: Determinación del efecto de un material o mezcla sobre un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Mide las proporciones de organismos afectados o el grado de efecto luego de la exposición.

GENOTÓXICO: describe a cualquier sustancia capaz de dañar el ADN originando mutaciones o el desarrollo de cáncer.

INGREDIENTE ACTIVO: el componente de una mezcla/formulación que es, en últimas, el responsable de los efectos fisiológicos.

ENSAYO PRELIMINAR (Screening): Prueba para determinarse si se produce un impacto. Estas pruebas se diseñan utilizando una concentración, múltiples replicas y una exposición de 24 a 96 horas.

MUTÁGENO: cualquier sustancia o agente capaz de producir cambios en el ADN que subsecuentemente se transmiten a las células de futuras generaciones. Estos cambios pueden, a veces, llevar al desarrollo de cáncer o a cambios en las características del organismo.

PRUEBA DE TOXICIDAD: la determinación del potencial tóxico de una sustancia en particular, bajo condiciones específicas, en un grupo de organismos seleccionados.

TIEMPO DE EXPOSICIÓN: Tiempo de contacto de los organismos de prueba con la solución estudiada.

TERATOGENESIS: el desarrollo de un descendiente con malformaciones después de la exposición del feto a una determinada sustancia química nociva. Según la etapa de desarrollo en que suceda la exposición, se presentarán las diferentes anomalías del feto o el embrión.

TOLERANCIA: Es la habilidad de un organismo a tolerar una condición dada por un periodo de tiempo prolongado de exposición, sin que muera.

TOXICIDAD: es la capacidad de una sustancia para causar algún efecto nocivo sobre un organismo vivo. Se debe hacer referencia a la cantidad administrada o absorbida (dosis o concentración), la vía (inhalación, ingestión, inyección, etc), distribución en el tiempo (dosis simple, múltiple), naturaleza y severidad del daño producido y el tiempo necesario para producir el efecto.

**TOXICIDAD AGUDA:** Efecto nocivo causado a los organismos utilizados en los bioensayos acuáticos, en un periodo de cuatro días o menos.

**TOXICIDAD CRONICA:** Efecto tóxico causado a los organismos utilizados en los bioensayos acuáticos relacionados con causar cambios en el apetito, crecimiento, metabolismo, reproducción, movilidad o la muerte en un periodo de cinco días en adelante.

**TÓXICO:** agente capaz de producir un efecto adverso, dañando la estructura y el funcionamiento del ecosistema.

**XENOBIÓTICO:** compuestos cuya estructura química en la naturaleza es poco frecuente o inexistente debido a que son compuestos sintetizados por el hombre en el laboratorio.

## RESUMEN

En este trabajo se determinó la sensibilidad de los organismos acuáticos *Daphnia pulex* utilizando neonatos de 6 a 24 hora de nacidos por medio del dicromato de potasio, obteniendo un resultado de **0.2958 mg/L**. Por esta razón pudimos demostrar el buen estado fisiológico del cultivo garantizando la confiabilidad de los resultados obtenidos con un tóxico de referencia.

Posteriormente calculamos la concentración letal media ( $CL_{50-48}$ ) del GLIFOSATO ROUNDUP 747<sub>SG</sub> realizando 10 ensayos de toxicidad, tomando 5 concentraciones diferentes, un control negativo o blanco y se hicieron cuatro replicas por cada concentración por un periodo de 48 horas (tiempo manejado por el ciclo de vida de la *Daphnia pulex*). Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el programa de método de unidades probabilísticas "Probit" el cual evalúa la relación concentración respuesta de un contaminante sobre un organismo con límites de confiabilidad del 95%; arrojando como resultado que la concentración letal media del Glifosato ROUNDUP 747<sub>SG</sub> es de **86.642 mg/l**.

Una vez terminada la investigación a nivel de laboratorio y recopilada información necesaria sobre el producto Roundup 747<sub>SG</sub>, se dieron elementos importantes para fortalecer la propuesta de incluir el producto como una sustancia de interés sanitario.

**Palabras Claves:** Concentración letal media, *Daphnia pulex*, Glifosato ROUNDUP 747<sub>SG</sub>, pruebas de toxicidad, organismos acuáticos.

## ABSTRACT

This study determines the sensitivity of aquatic organisms *Daphnia pulex* using infants 6 to 24 hours of birth by means of potassium dichromate, obtaining a result of 0.2958 mg / L. For this reason we were able to demonstrate the proper physiological status of the crop to ensure the reliability of the results obtained with a toxic reference.

Subsequently we estimate the median lethal concentration (LC50-48) GLYPHOSATE ROUNDUP 747SG making 10 toxicity tests, taking 5 different concentrations, a negative control or white and made four replicas for each concentration for a period of 48 hours (time driven by the life cycle of *Daphnia pulex*). The results were analyzed using the method of units of probability "Probit" which assesses the response concentration of a pollutant on a body with limits of reliability of 95%, dropping as a result that the average lethal concentration of Glyphosate is 747SG ROUNDUP of 86.642 mg/l.

Once the level research laboratory and collected necessary information on the product Roundup 747SG, were important elements to strengthen the proposal to make the product as a substance of health

**Key words:** Concentration lethal media, *pulex Daphnia*, Glyphosate ROUNDUP 747SG, toxicity tests, aquatic organisms.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1 OBJETIVOS</b>	<b>2</b>
1.1 OBJETIVO GENERAL	2
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
<b>2 MARCO TEÓRICO</b>	<b>3</b>
2.1 ECOSISTEMAS ACUÁTICOS	3
2.1.1 Tipos De Ecosistemas	3
2.1.2 Componentes de los Ecosistemas Acuáticos	3
2.1.2.1 Factores bióticos	3
2.1.2.2 Factores abióticos	4
2.1.3 Factores que influyen en el medio acuático	4
2.1.3.1 Temperatura	4
2.1.3.2 Iluminación	5
2.1.3.3 Gases disueltos	5
2.1.3.4 Sales minerales	6
2.1.3.5 pH	6
2.2 <i>Daphnia pulex</i>	6
2.2.1 Morfología	6
2.2.2 Alimentación	7
2.2.3 Sistema Digestivo	8
2.2.4 Sistema Respiratorio	8
2.2.5 Sistema Circulatorio	8
2.2.6 Sistema Nervioso	9
2.2.7 Sistema Excretor	9
2.2.8 Sistema Reproductivo	9
2.2.9 Criterio De Selección	10
2.2.10 Importancia Ecológica	11
2.3 ALGAS VERDES	12

<b>2.4</b>	<b>BIOENSAYOS</b>	<b>13</b>
2.4.1	Tipos bioensayos	13
2.4.1.1	Ensayos de respuesta directa. Bioensayos de toxicidad	14
2.4.1.2	Ensayos de respuesta indirecta	15
2.4.1.3	Factores que afectan la toxicidad	16
2.4.1.4	Condiciones de la prueba de toxicidad	17
2.4.1.5	Características Abióticas del Agua	17
2.4.1.6	Condiciones abióticas como factores modificantes de la toxicidad	18
<b>2.5</b>	<b>GLIFOSATO</b>	<b>20</b>
2.5.1	Características Generales	21
2.5.2	Uso e historiales	21
2.5.3	Fórmula química del Glifosato	22
2.5.3.1	Formulantes y adyuvantes	24
2.5.4	Surfactantes en la formulad del Glifodato	25
2.5.5	Tipos de Formulaciones Comerciales	25
2.5.6	Surfactantes e ingredientes de la formula básica	26
2.5.7	Propiedades, Toxicidad Y Ecotoxicidad	27
2.5.7.1	Propiedades Físico - Químicas Generales	27
2.5.7.2	Toxicidad	28
2.5.8	Efectos en El Medio Ambiente	32
2.5.8.1	Destino ambienta	32
2.5.8.2	Vías de exposición en el suelo, el aire, el agua y otros medios	33
2.5.8.3	Comportamiento en el Agua	34
2.5.8.4	Comportamiento en Suelos	36
2.5.8.5	Comportamiento en la atmósfera	37
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>38</b>
<b>3.1</b>	<b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>38</b>
3.1.1	Variable independiente	38
3.1.2	Variables dependientes	38
3.1.3	Constantes	38
<b>3.2</b>	<b>PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUÍDA</b>	<b>40</b>
3.2.1	Materiales de laboratorio	40
3.2.2	Reactivos	40
3.2.3	Procedimiento	41

<b>3.3</b>	<b>PREPARACIÓN DEL MEDIO BRISTOL Y CENTRIFUGACIÓN DE ALGAS VERDES <i>Selenastrum capricornutum</i>, <i>Scenedesmus quadricauda</i></b>	<b>42</b>
3.3.1	Materiales de laboratorio	42
3.3.2	Reactivos	43
3.3.3	Procedimiento	43
<b>3.4</b>	<b>ALIMENTACIÓN DE ORGANISMOS PRUEBA</b>	<b>47</b>
<b>3.5</b>	<b>MANTENIMIENTO DEL CULTIVO <i>Daphnia pulex</i></b>	<b>50</b>
3.5.1	Materiales	50
3.5.2	Procedimiento	50
3.5.3	Limpieza	51
<b>3.6</b>	<b>RECOLECCION Y MANIPULACION DE ORGANISMOS PRUEBA <i>Daphnia pulex</i></b>	<b>52</b>
<b>3.7</b>	<b>PRUEBAS DE TOXICIDAD</b>	<b>53</b>
3.7.1	Materiales y reactivos	53
3.7.2	Preparación de soluciones	54
3.7.3	Montaje de las pruebas de toxicidad (bioensayos)	54
3.7.4	Pruebas de toxicidad de sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	54
3.7.5	Pruebas de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	57
3.7.5.1	Pruebas preliminares de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	57
3.7.5.2	Pruebas definitivas de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	59
<b>3.8</b>	<b>GLIFOSATO ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>; SUSTANCIA DE INTERÉS SANITARIO</b>	<b>62</b>
<b>3.9</b>	<b>RESULTADOS FISICOQUÍMICOS FINALES</b>	<b>63</b>
<b>3.10</b>	<b>OBTENCIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>63</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS</b>	<b>65</b>
<b>4.1</b>	<b>PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUÍDA</b>	<b>65</b>
<b>4.2</b>	<b>SIEMBRA DE LOS ORGANISMOS, <i>Daphnia pulex</i> Y MANTENIMIENTO DE LOS CULTIVOS</b>	<b>66</b>

<b>4.3</b>	<b>ALIMENTACIÓN DE ORGANISMOS PRUEBA</b>	<b>67</b>
<b>4.4</b>	<b>PRUEBAS DE TOXICIDAD</b>	<b>70</b>
4.4.1	Pruebas sensibilidad con el tóxico de referencia dicromato de potasio (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> )	70
4.4.2	Determinación de la concentración letal media (CL <sub>50-48</sub> ) con el tóxico de referencia dicromato de potasio(K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ), y elaboración de la carta de control	70
4.4.3	Pruebas preliminares de toxicidad Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	73
4.4.4	Ensayos definitivos con Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	74
4.4.5	Determinación de la concentración letal media (CL <sub>50-48</sub> ) con Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub> .	74
4.4.6	Análisis de varianza de las pruebas definitivas del Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	76
<b>4.5</b>	<b>GLIFOSATO ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>; SUSTANCIA DE INTERÉS SANITARIO</b>	<b>77</b>
4.5.1	Marco legal	77
4.5.1.1	Normas Colombianas plaguicidas	82
4.5.2	Efectos sobre la salud	84
4.5.2.2	Toxicidad aguda	84
4.5.2.3	Toxicidad crónica	85
4.5.3	Efectos ambientales	85
4.5.3.1	Contaminación del suelo	85
4.5.3.2	Contaminación de aguas	85
4.5.3.2	Contaminación de alimentos	86
4.5.3.4	Deriva	86
4.5.4	Efectos en animales	86
4.5.4.1	Insectos y otros artrópodos benéficos	86
4.5.4.2.	Peces y otros organismos acuáticos	86
4.5.4.3	Aves	87
4.5.5	Casos de afección con glifosato	87
4.5.5.1	Impacto de las fumigaciones en el Ecuador	87
4.5.5.2	Piden la recategorización de glifosato: "alta peligrosidad"	87
4.5.5.3	El glifosato provoca las primeras etapas del cáncer	88
4.5.5.4	Inquietantes efectos del Roundup en los seres humanos y el ambiente	88
4.5.5.5	Seis pueblos de la Pampa Húmeda, Argentina, con malformaciones y niveles de cáncer superiores al normal por el uso de los agrotóxicos	89
4.5.5.6	Nuevas secuelas del glifosato	89
4.5.5.7	Toxicología del glifosato: riesgos para la salud humana	90

<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>91</b>
<b>6.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>93</b>
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>95</b>

## LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. Procedimiento y preparación del medio bristol y centrifugación de algas verdes	44
CUADRO 2. Conteo de algas	49
CUADRO 3. Desarrollo de las pruebas de sensibilidad	55
CUADRO 4. Procedimiento para el desarrollo de las pruebas de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	60
CUADRO 5. Sustancias de interés sanitario	79
CUADRO 6. Resumen Normatividad Colombiana sobre plaguicidas	83

## LISTA DE GRAFICAS

GRAFICA 1. Sensibilidad del cultivo al tóxico de referencia	72
GRAFICA 2. Concentración letal media del Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	76

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Partes de la <i>Daphnia pulex</i>	7
FIGURA 2. Formula estructural y molecular	22
FIGURA 3. Penetración del herbicida como el Glifosato a través de la cera de la cutícula en ausencia de surfactante (izquierda) y en presencia de surfactante (derecha)	24
FIGURA 4. Diagrama que muestra las rutas de exposición en diversos compartimentos ambientales cuando se usa el Glifosato para el control de los cultivos ilícitos	34
FIGURA 5. Reactivos Preparación medio Bristol	44
FIGURA 6. Beaker	44
FIGURA 7. Autoclave	44
FIGURA 8. Medio Bristol recién sacado del autoclave	45
FIGURA 9. Medio Bristol 15 días después	45
FIGURA 10. Medio Bristol en Beaker de 2000 ml	45
FIGURA 11. Centrifugadora DINAC II Brand, y tubos de centrifuga	45
FIGURA 12. Retiro sobrenadante	46
FIGURA 13. Extracción de concentrado de algas	46
FIGURA 14. Almacenamiento de algas en recipiente y refrigeración	46
FIGURA 15. Camara Neubauer	48
FIGURA 16. Dilución de algas	49
FIGURA 17. Preparación de la lectura de algas	49
FIGURA 18. Lectura de algas	49
FIGURA 19. Separación y mantenimiento de organismos de prueba	51
FIGURA 20. Selección de neonatos	55
FIGURA 21. Montaje de la batería de ensayo	55
FIGURA 22. Adición de soluciones de dicromato de potasio	55
FIGURA 23. Deposito de neonatos	56
FIGURA 24. Almacenamiento de pruebas	56
FIGURA 25. Lectura de pruebas	56
FIGURA 26. Determinación de la sensibilidad	57
FIGURA 27. Determinación de la concentración letal del Glifosato	58
FIGURA 28. Selección de neonatos	60
FIGURA 29. Montaje de la batería de ensayos	60
FIGURA 30. Adición de soluciones de Glifosato ROUNDUP 747 <sub>SG</sub> y neonatos	60
FIGURA 31. Almacenamiento de pruebas	61
FIGURA 32. Identificación del sitio de las pruebas	61
FIGURA 33. Lectura de pruebas	61
FIGURA 34. Elementos necesarios para incluir el Glifosato como sustancia de interés sanitario	62
FIGURA 35. Metodología para determinación de la CL <sub>50-48</sub> del Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub>	64

FIGURA 36. Acuario preparación agua reconstituida	65
FIGURA 37. Siembra neonatos	67
FIGURA 38. Área de cultivos	67
FIGURA 39. Mantenimiento de cultivos	67
FIGURA 40. Lectura cantidad de algas cámara Neubauer	68
FIGURA 41. Distribución de herbicidas en el medio ambiente	87

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1. Clasificación Taxonómica	6
TABLA 2. Clasificación Taxonómica <i>Selenastrum capricornutum</i>	12
TABLA 3. Clasificación de aguas según su Dureza	20
TABLA 4. Uso de Glifosato en las aspersiones para la erradicación en Colombia	22
TABLA 5. Identificación del Glifosato	26
TABLA 6. Formulación típica	26
TABLA 7. Presentaciones Comerciales del Glifosato	27
TABLA 8. Propiedades Fisicoquímicas	28
TABLA 9. Preparación de agua reconstituida	41
TABLA 10. Parámetros de control de las condiciones del agua reconstituida	42
TABLA 11. Preaparación del medio bristol	43
TABLA 12. Resumen de las condiciones recomendadas para el mantenimiento de cultivos de <i>Daphnia pulex</i>	52
TABLA 13. Condiciones al momento de realizarlas pruebas	53
TABLA 14. Registro de datos parámetros de control agua reconstituida	66
TABLA 15. Carta de control con dicromato de potasio en <i>Daphnia pulex</i> y varianza en cada una de las pruebas	71
TABLA 16. Comparación de resultados de Sensibilidad con Dicromato de Potasio ( $CL_{48}^{50}$ )	73
TABLA 17. Concentración letal media del glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub> y su respectiva varianza	74
TABLA 18. Comparación de resultados obtenidos por diferentes estudios de toxicidad con Glifosato	76

## LISTA DE ANEXOS

- ANEXO A. Resultado de las pruebas toxicologías con Dicromato de potasio.
- ANEXO B. Resultado de las pruebas toxicologías con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>.
- ANEXO C. Casos de afección con glifosato.
1. Impacto de las fumigaciones en el Ecuador.
  2. Piden la recategorización de glifosato: "alta peligrosidad".
  3. El glifosato provoca las primeras etapas del cáncer.
  4. Inquietantes efectos del Roundup en los seres humanos y el ambiente.
  5. Seis pueblos de la Pampa Húmeda, Argentina, con malformaciones y niveles de cáncer superiores al normal por el uso de los agrotóxicos.
  6. Nuevas secuelas del glifosato
  7. Toxicología del glifosato: riesgos para la salud humana
- ANEXO D. Hoja informativa del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>.
- ANEXO E. Protocolo Manejo de residuos en el laboratorio.
- ANEXO F. Carta visita al Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial.
- ANEXO G. Carta visita al Departamento nacional de antinarcóticos – Policía Nacional.
- ANEXO H. Carta para disposición final de residuos de Glifosato Roundup 747<sub>SG</sub>.
- ANEXO I. EPA. Registration Eligibility Decision RED (Glyphosate) and RED FACTS "Glyphosate". (Medio magnético).

## INTRODUCCIÓN

El Glifosato es un herbicida sistémico que actúa en post-emergencia, no selectivo, de amplio espectro, usado para controlar plantas no deseadas como pastos anuales y perennes, hierbas de hoja ancha y especies leñosas. El Glifosato mismo es un ácido, pero es comúnmente usado en forma de sales, más comúnmente la sal isopropilamina de Glifosato, o sal isopropilamina de N-(fosfometil) glicina. Su nombre comercial más conocido es el ROUNDUP® 747 SG.<sup>1</sup>

El riesgo está en que estos productos llegan al suelo sin perder su capacidad tóxica y aunque aparentemente sean almacenados en el suelo en forma inactiva, su efecto no es plenamente conocido. Según reporte del Grupo de Plaguicidas Químicos de uso Agrícola (ICA, 1998), en Colombia se consume alrededor de 23'500.00 Lt de herbicidas al año, de los cuales aproximadamente el 72% corresponde al Glifosato.

Por tratarse de un producto químico es de suponerse que su reacción más significativa se da con los organismos del suelo cuando el herbicida llega a éste, afectando indirectamente el agua por escorrentía y superficial, de tal forma que pueden ser incorporados en su metabolismo o simplemente ser almacenados en su estructura y en el suelo.

El uso de bioensayos para la evaluación de toxicidad de sustancias liberadas al medio, son herramientas ampliamente utilizadas en el campo de la ecotoxicología a nivel mundial para conocer los efectos en los diferentes ecosistemas, frente a la presencia de sustancias altamente tóxicas.

---

<sup>1</sup> DINHAM, Barbara. Resistance to glyphosate. En: Pesticides News 41: 5, The Pesticides Trust. PAN-Europe. London, UK. 1998.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del Glifosato ROUNDUP® 747 SG ( $(\text{NH}_4)\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_5\text{P}$ ), por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la sensibilidad de los organismos *Daphnia pulex* mediante el Dicromato de Potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ).
- Determinar la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del Glifosato sobre organismos acuáticos del género *Daphnia pulex*.
- Proponer elementos para incluir el Glifosato como ingrediente activo (Acido Glifosato), como sustancia de interés sanitario y su concentración letal en una nueva norma de vertimientos.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ECOSISTEMAS ACUÁTICOS

Los cuerpos de agua como ríos, lagos, pantanos y demás fuentes son ecosistemas. Los dos tipos más destacados son: los ecosistemas marinos, y los ecosistemas de agua dulce. Los ecosistemas de agua pueden considerarse entre los más importantes de la naturaleza y su existencia depende totalmente del régimen que tengan.

En los cuerpos de agua dulce de los ríos, se debe tener en cuenta la variedad de su composición. Como esta composición química depende, en primer lugar, de lo que el agua pueda disolver del suelo por el que discurre, o de los lugares a donde se dirige, es el suelo lo que determina la composición química del agua.

#### 2.1.1 Tipos De Ecosistemas<sup>2</sup>

**Aguas lénticas o estancadas**, comprenden todas las aguas interiores que no presentan corriente continua. A este grupo pertenecen los lagos, lagunas, charcas y pantanos.

**Aguas lólicas o corrientes**, incluyen todas las masas de agua que se mueven continuamente en una misma dirección. Existe por consiguiente un movimiento definido y de avance irreversible.

#### 2.1.2 Componentes de los Ecosistemas Acuáticos

##### 2.1.2.1 Factores bióticos

Son los componentes de un ecosistema que poseen vida y que permiten el desarrollo de la misma. En general los factores bióticos son los seres vivos; como: animales, plantas, hongos, bacterias, etc.

---

<sup>2</sup> MARCANO, José E. Educación Ambiental, Elemento de ecología; Ecología de las aguas dulces 2º parte; clasificación ecológica de los organismos de agua dulce y comunidades del medio acuático, 2000.

### 2.1.2.2 Factores abióticos

Son los componentes de un ecosistema que no requieren de la acción de los seres vivos, o que no poseen vida, es decir, no realizan funciones vitales dentro de sus estructuras orgánicas.<sup>3</sup>

### 2.1.3 Factores que influyen en el medio acuático<sup>4</sup>

Existen diversos factores que determinan las condiciones ecológicas del medio dulceacuícola.

#### 2.1.3.1 Temperatura

Es tal vez el factor que más influencia tiene en los lagos, pues determina la densidad, viscosidad y movimiento del agua. La temperatura juega un papel importante en la distribución, periodicidad y reproducción de los organismos. Esto se debe a que el agua presenta ciertas propiedades térmicas que son:

- a. Calor específico. La capacidad calórica del agua a 15° C representa la unidad y, por tanto, el calor específico de otras sustancias se expresa como referencia al del agua. Una masa de agua requiere gran cantidad de calor para elevar su temperatura, pero tarda más para enfriarse; por esto el agua actúa como regulador térmico.
- b. Calor latente de fusión. Es la energía absorbida por la sustancia para convertir 1 gramo de hielo en agua, lo que requieren 80 calorías a 0°C
- c. Conductividad térmica. La capacidad de transferir el movimiento al agua es muy baja, por tanto su calentamiento por conducción es muy lento.
- d. El calor latente de evaporación. Es el más alto. Gran parte de la radiación solar se utiliza en la evaporación del agua, produciendo efectos beneficiosos sobre los climas y éstos a su vez sobre las comunidades.
- e. Densidad del agua. El agua al solidificarse aumenta de volumen, por tanto el hielo flota sobre las aguas. Esta propiedad evita que los lagos se solidifiquen totalmente, cuando las aguas se congelan en la superficie.

---

<sup>3</sup> OROZCO HOLGUÍN, Juliana y TORO BARBIER, Angela María. Determinación de la concentración letal media (cl<sub>50-48</sub>) del cromo y el cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle 2006.

<sup>4</sup> Ibid., p. 3

### 2.1.3.2 Iluminación

La radiación solar penetra en las aguas, hasta determinadas profundidades, dependiendo de los materiales que se encuentran en suspensión y del ángulo de incidencia del rayo luminoso. La luz es indispensable para la fotosíntesis que realizan las plantas acuáticas, especialmente el fitoplancton.<sup>5</sup>

Parte de la luz que penetra en el agua es absorbida selectivamente, es decir, determinadas longitudes de onda penetran más profundamente que otras. Una parte de la luz es desviada o sufre fenómenos de reflexión. Por tanto, las condiciones ópticas de las aguas son de importancia primordial para la productividad biológica y para el mantenimiento de la vida.

Una de las propiedades ópticas del agua que influye en la penetración de la luz es la transparencia. Si existen muchos materiales en suspensión, la penetración de la luz será menor; esto puede constituir un factor limitante para el desarrollo de los organismos vivos.

### 2.1.3.3 Gases disueltos.<sup>6</sup>

El oxígeno y el anhídrido carbónico disueltos en el agua son los dos gases de mayor importancia. Tanto la concentración de oxígeno como la del anhídrido carbónico constituyen con frecuencia factores limitantes.

El oxígeno disuelto en el agua proviene de la fotosíntesis que realizan los vegetales con clorofila.

Como esta actividad fotosintética es mayor en las capas superiores bien iluminadas, su concentración será mayor a este nivel. En los niveles próximos al fondo, su concentración es mínima debido a los procesos de oxidación de la materia orgánica.

El anhídrido carbónico es un gas que se combina con el agua para formar ácido carbónico. Proviene de la atmósfera y de la actividad respiratoria de los organismos. Su concentración en el agua es variable; cuando es alta, puede constituir un factor limitante para los animales, ya que en estos casos suele ir asociado a concentraciones bajas de oxígeno.

---

<sup>5</sup> RODRÍGUEZ, J. y ESCLAPÉS, M. Protocolos Estándares para Bioensayos de Toxicidad con Especies Acuáticas. Versión 10. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. INTEVEP. PDVSA. Venezuela. 1995. p 109

<sup>6</sup> Ibid., p. 3

#### 2.1.3.4 Sales minerales

En las aguas dulces las sales minerales más abundantes son los carbonatos, los sulfatos y los cloruros. El calcio juega un papel fundamental, ya que determina dos diferentes tipos de agua: a) aguas duras, cuando la concentración de calcio es inferior a 25 mg por litro; b) aguas blandas, cuando la concentración de calcio es inferior a 9 mg por litro.

#### 2.1.3.5 pH

Hay organismos que viven en aguas con un pH ácido; otros viven en medios acuáticos alcalinos. Las aguas dulces tienen el pH entre 6.5 y 8.7; las aguas marinas entre 8 y 8.5.<sup>7</sup>

### 2.2 *Daphnia pulex*

La *Daphnia pulex* se encuentran en el cuarto orden de los branquiópodos. Llamada también pulga de agua que habita en agua dulces, lagos, lagunas, charcas permanentes o temporales.

*Daphnia pulex* un crustáceo de unos pocos milímetros de longitud, su cuerpo es transparente lo cual facilita la observación de sus órganos internos, presenta un caparazón bilvalvo y un reducido número de apéndices torácicos, posee ojos sensibles. El movimiento de las antenas presenta el principal medio de locomoción.<sup>8</sup>

TABLA 1. Clasificación Taxonómica

<b>PHILUM</b>	ARTOPODA
<b>CLASE</b>	CRUSTÁCEA
<b>SUBCLASE</b>	BRACHIOPODA
<b>ORDEN</b>	DIPLOSTRACA
<b>SUBORDEN</b>	CLADOCERA
<b>FAMILIA</b>	DAPHNIDAE
<b>GENERO</b>	DAPHNIA

Fuente: González y Gutiérrez, 1995

#### 2.2.1 Morfología

El tamaño de la *Daphnia pulex* puede variar entre 0.2 mm y 3.0 mm, esta se caracteriza por tener un caparazón quitinoso que cubre y protege tanto la cabeza

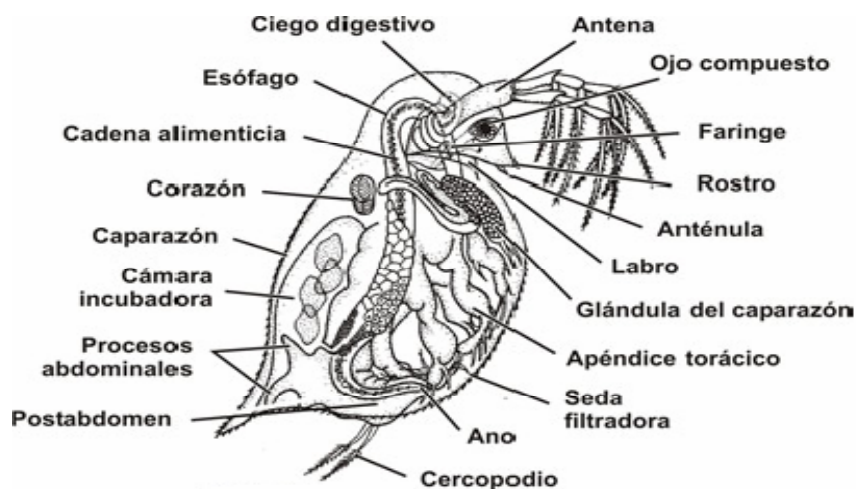
---

<sup>7</sup> Ibid., p. 3

<sup>8</sup> GONZÁLEZ GÓMEZ, Henry Bernardo y GUTIÉRREZ ÁLVAREZ, Sandra del Pilar. Clasificación y ciclo de vida de una especie *Daphnia* nativa de la sabana de Bogotá.. Universidad de La Salle, 1995.

como el cuerpo; no obstante se encuentra abierto en la parte ventral, lo que da apariencia de dos valvas grandes siendo solo una pieza cuticular plegada. Tiene una cabeza un poco separada del cuerpo pero cubierta por el caparazón, la cual se proyecta en un corto pico de forma variable. A cada lado se encuentra un fórnix, que es una especie de quilla que marca la inserción de un par de antenas generalmente fuertes y siempre móviles formadas por un segmento basal que se puede distinguir en dos ramas: una dorsal formada por 3 ó 4 artejos y, otra ventral o endopodio formada por 3 artejos con sedas plumosas.<sup>9</sup>

FIGURA 1. Partes de la *Daphnia pulex*



Fuente: RICO ORDÁS, José Manuel; MENÉNDEZ VALDERREY, Juan Luís. Asociación ASTURNATURA. COM. Marzo 2007.

### 2.2.2 Alimentación

La *Daphnia pulex* es un organismo filtrador y los bordes de los apéndices presentan cerdas finas para realizar esta función.

El tórax está compuesto por 5 ó 6 pares laminares y foliáceos con numerosos pelos en el endópodo, el cual sirve para filtrar el alimento que es capturado mediante movimientos complejos de los peines filtradores, creando así una corriente filtradora por medio de las valvas lo cual permite que la superficie del cuerpo este oxigenada y que las partículas de alimento lleguen al interior del organismo. Las partículas de alimento filtradas son recogidas en un canal ventral ubicado en la parte de las patas y son impulsadas hacia la boca; allí son mezcladas con las secreciones bucales, el cumulo de alimento es triturado entre

<sup>9</sup> IRLEVA I.V., Mass cultivation of invertebrates biology and methods. Academy of Sciences of the USSR. All Union Hydrobiological Society and Israel Program for Scientific Translations. Cap. Branchiopoda 52–78, *Daphnia* 79–120. 1973

las mandíbulas para después ser penetrado en la boca. El alimento que no ha sido digerido es expulsado con la ayuda de unas espinas localizadas en la base del primer par de patas torácicas y arrojado fuera del caparazón.<sup>10</sup>

Su dieta principal es a base de algas unicelulares con gruesas paredes, lo que permite que sean digeridas rápidamente y consumidas en su totalidad. También son consumidoras de algunas algas coloniales de paredes gruesas de apariencia gelatinosa, lo que permite que pasen intactas a través del conducto digestivo permaneciendo relativamente inalteradas, viables y disgregadas en pequeñas partículas, para ser consumidas por el organismo de acuerdo con la necesidad.<sup>10</sup>

Las tasas de filtración zooplactónicas se establecen de acuerdo al volumen de partículas alimenticias filtradas por unidad de tiempo y se define como “el volumen de agua que contiene el número de células ingeridas por animal en un tiempo dado”, esté termino no implica que el volumen de agua que pasa a través de los apéndices filtradores sea conocido, ni que todas las partículas hayan sido separadas del agua, ni siquiera que todas las partículas retenidas por el aparato filtrador hayan sido consumidas. Las tasas de filtración de los cladóceros varían de manera considerable con el tamaño del cuerpo, el alimento y la temperatura.

### 2.2.3 Sistema Digestivo

El sistema digestivo de la *Daphnia pulex* se inicia en la boca pasando por un corto esófago al intestino medio donde son digeridas y asimiladas las partículas alimenticias, culminado el proceso por el ano.

### 2.2.4 Sistema Respiratorio

La respiración es aerobia en su totalidad. El intercambio de gases en estos individuos se efectúa vía epipodito de los apéndices torácicos que están transformados en las branquias. Un intercambio normal de gases entre la sangre y el medio se lleva a cabo por el constante movimiento de los apéndices torácicos que crean una corriente continua de agua fresca. Cuando se encuentran en un medio aireado son incoloros, pero cuando el mismo presenta deficiencia de oxígeno, se tornan de color rojo debido a que poseen hemoglobina<sup>11</sup>

### 2.2.5 Sistema Circulatorio

Los sistemas circulatorios de los crustáceos varían mucho; pueden no existir o encontrarse en forma tubular como es el caso de los cladóceros los cuales pertenece la *Daphnia pulex*. Esta presenta un vaso sanguíneo corto que conduce

---

<sup>10</sup> IRLEVA I.V. Op. Cit., p. 7

<sup>11</sup> GONZÁLEZ y GUTIÉRREZ. Op cit., p. 6

sangre desde el corazón a la parte anterior, el vaso no se ramifica y la sangre pasa a través de senos y no de venas.<sup>12</sup>

La *Daphnia pulex* que se encuentra en aguas estancadas presentan un color rosado debido a la hemoglobina, mientras que las que se encuentran aireadas son de color claro.

El ritmo y la regularidad de contracción del músculo cardíaco varía en las distintas especies de invertebrados y vertebrados. La velocidad de contracción del corazón puede alterarse por condiciones que afectan a todo el animal, como temperatura, actividad, acción hormonal efecto de neurotransmisores. La frecuencia cardíaca normal a 20°C es de 240 a 250 latidos por minuto, la cual puede disminuir o aumentar de este rango por efecto de neurotransmisores como la acetilcolina, adrenalina y dopamina.

#### 2.2.6 Sistema Nervioso

El sistema nervioso consiste en un cordón ventral doble, con unos pocos ganglios, dos pares de nervios laterales y un ganglio cerebral o cefálico ubicado frente al esófago.

Los órganos sensitivos están representados por un par de ojos compuestos, un par de ocelos y sedas sensoriales antenales y post-abdominales. Los ojos compuestos se originan embriológicamente en forma de estructuras pareadas que se fusionan más tarde para formar un ojo único, el cual a medida que se desarrolla, se sume en la cabeza y es cubierto por el exoesqueleto, circunscribiendo una cavidad.<sup>13</sup>

#### 2.2.7 Sistema Excretor

Las funciones excretorias se realizan mediante una glándula especial de posición anterior denominada glándula de la concha, que consiste en un tubo contorneado que se encuentra en la parte antero - abdominal a cada lado del caparazón.<sup>12</sup>

#### 2.2.8 Sistema Reproductivo

Son de sexos separados, con diformismo sexual asentado. La hembra posee dos ovarios alargados, laterales y algo ventrales al intestino, en la región torácica del cuerpo; que cuando maduros, tienen aspecto densamente granular. Los oviductos, difícilmente diferenciables, se abren dorsalmente en la cámara incubadora. En los machos los testículos son pequeños con esperma semitransparente y con un

---

<sup>12</sup> ESPINDOLA D., Cecilia. Prácticas de biología de organismos multicelulares. Publicado por Pontificia Universidad Javeriana.

<sup>13</sup> Ibid., p. 8

ducto que se abre próximo al ano en el extremo post-abdominal; presentan notorios caracteres sexuales secundarios, tales como la transformación de anténulas, patas y post – abdomen y tiene un órgano copular especial.<sup>14</sup>

La reproducción es de dos tipos: partenogenética y sexual, comportando un ciclo alternando heterogéneo. La población esta formada exclusivamente por hembras que producen por mitosis huevos con número diploide de cromosomas (2n) de los cuales se forman nuevas hembras partenogenéticas. Este tipo de reproducción se realiza cuando las condiciones ambientales son muy favorables (sequías, anoxia, bajas temperaturas, etc.). Cuando las condiciones para el desarrollo de estos organismos vuelve a ser favorable, a partir de estos dos huevos se generan dos nuevas hembras diploides, pero con una dotación genético diferente a la de sus madres. Los mecanismos fisiológicos por los cuales se desencadena estos fenómenos todavía son desconocidos.

El crecimiento de la *Daphnia*, es rápido ocurre inmediatamente después de la muda cuando el tegumento permanece aún blando. Una vez que éste se ha endurecido no hay incremento de tamaño hasta después de la siguiente muda.

La tasa de crecimiento es rápida al inicio del ciclo de vida para luego disminuir a niveles muy bajos hacia el final de la vida del mismo. El número de estadios por períodos y su duración es variable dependiendo de la especie. El período de huevo se desarrolla completamente dentro de la cámara de cría.<sup>15</sup>

#### 2.2.9 Criterio De Selección

En pruebas de toxicidad es comúnmente utilizada la *Daphnia pulex*, ya que permite determinar las concentraciones letales a diferentes sustancias químicas puras, aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable, entre otros.

Es importante a la hora de selección tener en cuenta los períodos de aclimatación en el laboratorio, los ciclos de vida de los organismos, los requerimientos del cultivo, los cuidados a la hora de la manipulación, que no sufran daños, que se encuentren sanos y que sean de edad o tamaño uniformes, entre otros. Por esto, algunas razones para seleccionar este organismo fueron:<sup>16</sup>

- Conocimiento previo de la biología de la especie (comportamiento, hábitos alimenticios, ciclo de vida, reproducción y desarrollo, etc).
- Es un representante importante de la comunidad zooplantónica.

---

<sup>14</sup> GONZÁLEZ y GUTIÉRREZ. Op cit., p. 6

<sup>15</sup> Ibid., p. 7

<sup>16</sup> OROZCO y TORO Op cit., p. 4

- Son fáciles de encontrar, en número suficiente y se recolectan sin dificultad en los humedales de la ciudad.
- Presentan sensibilidad muy alta a cualquier tipo de tóxico.
- Son fáciles de criar y manipular en el laboratorio, dado su tamaño suficientemente pequeño, no ocupan mucho espacio.
- Su reproducción es de forma partenogenética, lo que asegura la uniformidad de respuesta a determinadas condiciones ambientales.
- Por su ciclo de vida corto y su tasa de renovación alta.
- Los costos de cultivo y mantenimiento son bajos.
- Es fácil comparar los resultados obtenidos con trabajos realizados en diferentes partes, dada la gran utilización de estos microorganismos por diferentes entidades ambientales y laboratorios.
- Arrojan resultados para la protección del ecosistema, ya que la *Daphnia* se encuentra en un gran número de cuerpos de agua y su cambio o alteración significa un desequilibrio grave en la cadena trófica.

#### 2.2.10 Importancia Ecológica

La *Daphnia pulex* es el puente de la cadena trófica entre un productor y un consumidor, particularmente, se alimenta de algas y sirve a la vez de alimento para los peces, de esta forma es fuente de alimento de los consumidores secundarios.

Las *Daphnias* son consumidores de fitoplancton y de esta forma, pueden modificar la estructura de este grupo, a través del consumo diferencial de algunas especies y les son más fáciles de ingerir por forma y tamaño.

En comparación con el fitoplancton, el zooplancton presenta una menor diversidad de especies, pero para contrarrestar lo anterior, *Daphnia pulex* al igual que otros individuos pertenecientes al zooplancton tienen riesgos típicos de adaptación como es el multiplicarse rápidamente por vía sexual cuando las condiciones no son favorables.<sup>17</sup>

Es un organismo filtrador del agua por excelencia, reteniendo diferentes clases de partículas, y esta es una razón importante de que *Daphnia pulex* sea tan sensible a la contaminación y se use en los bioensayos. Al tener una reproducción por partenogénesis, asegura el trabajar en bioensayos con una población genéticamente idéntica, lo cual permite asegurar la validez de los resultados, por presentarse homogeneidad y estabilidad genética.<sup>17</sup>

---

<sup>17</sup> ESPINOSA y JARRO, Determinación del intervalo de sensibilidad con cromo hexavalente en dos especies de cladóceros bajo condiciones de alimentación controladas. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología 1999


La sensibilidad de las *Daphnia pulex* es a diferentes tipos de sustancias tóxicas, así mismo, es de fácil manejo, ocupa poco espacio y poca agua, su transporte no es complicado, las enfermedades que se presentan en el microorganismo son controlables y posee una historia de vida corta.

## 2.3 ALGAS VERDES

Las Cholorophyta se caracterizan por que presentan cloroplastos de color verde, comprenden formas microscópicas unicelulares, filamentosas simples o ramificadas y algunas formas desarrolladas. La mayoría forman parte del plancton y del bentos de agua dulce, las especies marinas son de mayor tamaño, y constituyen en forma secundaria el plancton marino.<sup>18</sup> En la tabla 2 encontramos la clasificación taxonómica de las algas verdes usadas en laboratorio de bioensayos.

Las Algas verdes, normalmente las encontramos en ambientes de agua dulce, poseen un tamaño aproximado de 7 a 25 µm de largo y 2,5 a 7,5 µm de ancho; puede encontrarse en forma unicelular o colonias no flageladas. Algunas colonias son cenóbicas (número de células es fijo), cada célula contiene un cloroplasto plano y usualmente pirenoide. Presentan formas elipsoidales o fusiformes de 2, 4 u 8 en series lineales para formar una colonia plana; pueden presentar pared lisa o verrugosa, los polos de las células se encuentra a menudo ornamentados con espinas.<sup>18</sup>

TABLA 2. Clasificación Taxonómica de la *Selenastrum capricornutum*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>	
<b>Subreino</b>	<i>Thallobionta (talofitas)</i>	
<b>División</b>	<i>Cholorophyta (algas verdes)</i>	
<b>Clase</b>	<i>Chlorophyceae</i>	
<b>Orden</b>	<i>Chlorococcales</i>	
<b>Familia</b>	<i>Selenastraceae</i>	
<b>Genero</b>	<i>Selenastrum</i>	
<b>Especie</b>	<i>S. capricornutum</i>	

Fuente: [www.unillanos.edu.co/ull\\_insc\\_web/new\\_portal/docs/Libro\\_Glifosato](http://www.unillanos.edu.co/ull_insc_web/new_portal/docs/Libro_Glifosato)

<sup>18</sup> ZAMBRANO USSA, Bertha Rossana y BELTRAN TORRES John Jairo. Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del fenol en los vertimientos de la Clínica Veterinaria de la Universidad de La Salle – Sede Floresta, por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle 2008

## 2.4 BIOENSAYOS

Los bioensayos de toxicidad permiten evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene en organismos vivos y éstos pueden ser agudos o crónicos. Las pruebas agudas cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a una especie en particular. El valor calculado se denomina concentración letal media (CL<sub>50</sub>) y corresponde a la concentración de un xenobiótico que causa la muerte al 50 % de la población experimental al cabo de un tiempo determinado, generalmente en 48 o 96 horas. En contraste, las pruebas crónicas estiman la concentración de la sustancia de prueba que causa un efecto al 50% de la población experimental al cabo de un tiempo determinado.<sup>19</sup>

Para regular las descargas de aguas residuales tóxicas hay que utilizar datos de ensayos de toxicidad hechos con organismos vivos y confiar en estos datos, además de efectuar estudios detallados de las características físicas y químicas de los contaminantes y de los cambios que ocurren después de su descarga en el medio. Cuando se puedan describir con precisión en términos químicos y físicos los componentes tóxicos de un contaminante y se disponga de técnicas analíticas pertinentes y de suficiente información acerca de la toxicidad de esos componentes para los organismos acuáticos, se podrán establecer normas para tales contaminantes en valores numéricos para los componentes tóxicos.<sup>20</sup>

### 2.4.1 Tipos bioensayos<sup>20</sup>

Los bioensayos son pruebas en las cuales tejidos vivos o grupo de organismos son usados como agentes para determinar la potencia de cualquier sustancia fisiológicamente activa, permitiendo comparar la toxicidad de diferentes compuestos y conocer la sensibilidad de las diversas especies, para determinar los mecanismos de los efectos de las sustancias ensayadas.

Son herramientas que se utilizan en la ecotoxicología, con la que se estudia el efecto y destino de los contaminantes antropogénicos tóxicos en ecosistemas acuáticos y terrestres, mediante mediciones experimentales bajo condiciones controladas en laboratorio, descubriendo en ciertos casos concentraciones muy bajas de contaminantes.

---

<sup>19</sup> RODRÍGUEZ y ESCLAPÉS. Op cit., p. 5

<sup>20</sup> Ibid., p. 12

#### 2.4.1.1 Ensayos de respuesta directa. Bioensayos de toxicidad:

##### ❖ Bioensayos agudos<sup>21</sup>

Cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a una especie en particular. El valor calculado se denomina concentración letal media (CL<sub>50</sub>), y representa la concentración que causa la muerte al 50 % de la población experimental, en un tiempo determinado (generalmente 48 horas).

- De tipo estático: Se efectúa sin la renovación continua del flujo constante de las diluciones sometidas al ensayo.
  - ✓ Sin renovación: los organismos se exponen a la misma solución de prueba el tiempo de duración del ensayo.
  - ✓ Con renovación: los especímenes se someten a una preparación fresca de la misma concentración inicialmente empleada, periódicamente (generalmente cada 24 horas). Tal renovación puede ser necesaria cuando importantes sustancias tóxicas se deterioran, o son absorbidas, o se pierden por cualquier otra razón, con suficiente rapidez para influir considerablemente con los resultados del ensayo.
  - ✓ De flujo continuo: Circula continuamente una corriente de sustancia de prueba nueva en contacto con los individuos experimentales. Se realizan con la renovación continua o casi continua de las diluciones sometidas al ensayo, con el fin de mantener casi constantes las concentraciones de las sustancias tóxicas activas.

##### ❖ Bioensayos crónicos<sup>22</sup>

Estiman la concentración efecto media (CE<sub>50</sub>), la cual es la concentración de la sustancia de prueba que causa un efecto al 50% de la población experimental, al cabo de un tiempo determinado; depende del estadio de vida considerado o del ciclo de vida del organismo empleado.

Alternativamente, un ensayo definitivo puede utilizarse para estimar el tiempo requerido para producir un efecto al 50% de los organismos (TE<sub>50</sub>), a una concentración específica.

---

<sup>21</sup> FAO. Manual de Métodos de Investigación del Medio Ambiente Acuático. Parte 4<sup>a</sup>. Bases para la Elección de Ensayos Biológicos para Evaluar la Contaminación Marina. FAO, 1981. 34 p.

<sup>22</sup> Ibid., p. 12

#### ❖ Bioestimulación<sup>23</sup>

Se mide la facultad de las aguas residuales o de las sustancias químicas de estimular la multiplicación y el desarrollo de algas, efecto este de eutroficación que frecuentemente se traduce en una superabundancia o proliferación de algas.

#### ❖ Bioensayos de repelencia

Trata de medir en el laboratorio las reacciones de escapes de los animales acuáticos frente a un contaminante. Al organismo utilizado (generalmente pez o crustáceo de buen tamaño) se le ofrece la oportunidad de elegir entre aguas "contaminadas" y aguas "limpias" en un tubo o tanque pequeño; el gradiente de interfaz puede ser brusco. Los aparatos y procedimientos miden también, por lo general, cuando existe la atracción hacia el contaminante. Para las especies con motilidad el escapamiento puede ser a veces la respuesta subletal clave, de naturaleza más sensible y más significativa que el deterioro de la reproducción medido mediante ensayos de toxicidad crónicos. Sin embargo, es particularmente difícil predecir, a partir de estos resultados de laboratorio, lo que ocurriría en el medio. Las respuestas de escape pueden estar o no relacionadas con la toxicidad del contaminante, en algunos casos los organismos no pueden soportar determinadas concentraciones tóxicas o pueden ser atraídas por ellas.<sup>23</sup>

#### ❖ Bioacumulación

Las grandes concentraciones de sustancias tóxicas en los tejidos pueden causar la muerte, pero el organismo es capaz de acumular durante algún tiempo cantidades menores sin sufrir daño. En este último caso, los depredadores pueden acumular las sustancias en grado tal que resulte nociva para ellos o para los depredadores del nivel trófico siguiente.<sup>23</sup>

#### 2.4.1.2 Ensayos de respuesta indirecta

#### ❖ Ensayos organolépticos

Algunos contaminantes pueden producir olores o sabores desagradables en los organismos acuáticos. El contaminante puede no ser nocivo para el organismo acuático, pero puede ocurrir que el organismo pierda valor económico. El mejor procedimiento consiste en la evaluación por parte de personas experimentadas en bromatología y emplear gran número de catadores diestros.<sup>23</sup>

---

<sup>23</sup> Ibid., p. 13

## ❖ Ensayos de bioestimulación

Los efectos de los nutrientes adicionales pueden ser indirectos, como por ejemplo, la producción de sustancias tóxicas o la desoxigenación del agua debida a la proliferación de algas. Los bioensayos se pueden realizar en el laboratorio bajo condiciones controladas o en el campo directamente en el medio natural. Los bioensayos de laboratorio pueden ser mono o multiespecíficos. Los monoespecíficos son diseñados para obtener información acerca de los efectos de la calidad de agua sobre la supervivencia y aspectos de la estructura y dinámica de una población dada. Los multiespecíficos pueden ofrecer información sobre el impacto a nivel de una comunidad determinada. Los bioensayos de campo consisten en la exposición de una o más poblaciones a la acción directa del cuerpo de agua, para ello se utilizan contenedores que permiten mantener la población en estudio en un espacio adecuado, sin afectar su relación con el medio. Estos proponen, principalmente, estudiar los efectos sobre comunidades o poblaciones, sin prestar atención a los mecanismos de acción de los contaminantes a nivel de los individuos en particular.<sup>24</sup>

### 2.4.1.3 Factores que afectan la toxicidad<sup>25</sup>

Las características del agua como las de los microorganismos pueden modificar la toxicidad de los contaminantes presentes en el agua. Por consiguiente, se deben eliminar los factores extraños que pueden afectar las pruebas de toxicidad, teniendo un control en las mismas de OD, pH, dureza y temperatura, con este registro se mantiene un valor constante de estos parámetros, eliminando así todas las variables excepto la concentración del tóxico.

En algunos casos los cambios en el potencial tóxico están dados por las características del agua de dilución. El conocimiento de las posibles variaciones puede ayudar a ejercer un control estricto para tener certeza sobre los resultados obtenidos.

Tanto las características bióticas como las abióticas actúan, como factores modificantes de la toxicidad. Las bióticas incluyen todos los factores que son inherentes a los microorganismos; entre ellas:

- Tipo de microorganismos (algas, insectos, peces, etc.)
- Especies, toda vez que una especie puede responder en forma diferente a otra especie frente a un tóxico dado en el mismo grupo
- Estado de la vida (larva, joven, adulto)

---

<sup>24</sup> TORTORELLI, M. y HERNÁNDEZ, D.. Calidad de agua de un ambiente acuático sometido a efluentes contaminantes. Ecosistemas de Aguas Continentales. Tomo I. Ediciones Sur. La Plata – Argentina. 1995 p. 217-230.

<sup>25</sup> ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de riesgos ambientales. Santafé de Bogotá D. C., 1997; p.23-24

- Tamaño del individuo
- Estado nutricional y salud del individuo
- Sexo del organismo prueba
- Estado fisiológico y grado de aclimatación a las condiciones medioambientales

Dentro de las condiciones abióticas que pueden actuar como factores modificantes se encuentran toda la gama de características fisicoquímicas del agua que rodean el microorganismo: temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad, dureza, sólidos suspendidos orgánicos e inorgánicos, sales disueltas, nutrientes y sus proporciones relativas; el CO<sub>2</sub> disuelto y otros gases, la intensidad de la luz, el fotoperiodo, el movimiento del agua y las variaciones de todos estos factores en un cuerpo de agua particular.<sup>26</sup>

#### 2.4.1.4 Condiciones de la prueba de toxicidad

En este aspecto se consideran algunos factores como el tener suficiente solución de prueba de acuerdo a los organismos utilizados, y que a su vez, estos estén contemplados en las buenas prácticas de planeación experimental y rutina de laboratorio.<sup>27</sup>

La actividad de un organismo confinado en un medio (tanque, acuario, etc.) no parece que produjera una mayor incidencia en relación con su comportamiento con respecto a un hábitat natural. Sin embargo, uno de los aspectos que originan las diferencias en las respuestas es la actividad física del organismo, la cual tiene algún efecto en la resistencia. La naturaleza artificial de un tanque o acuario en ciertos organismos prueba como los peces y la *Daphnia* generalmente no se tienen en cuenta como factor, sin embargo puede tener un efecto sobre la tolerancia o al menos sobre la variabilidad de la respuesta. La clave para reducir tales variaciones, radica en seguir buenas prácticas de laboratorio y estandarizar cada uno de los factores involucrados, excepto la variable que se está estudiando que es la concentración del tóxico.<sup>27</sup>

#### 2.4.1.5 Características abióticas del agua

La mayoría de las características que poseen las aguas naturales, son modificadas por factores antropogénicos. Estos son de fundamental importancia en virtud de su acción directa sobre los organismos acuáticos. Para cada una de estas características naturales, existe un valor o nivel óptimo y en algunos casos una zona o franja para una especie dada, donde los organismos adquieren un mejor desarrollo y una mejor actividad fisiológica (aclimatación) para alimentarse y

---

<sup>26</sup> BERNAL PAREDES Alba Janneth y ROJAS AVELLA Andrea Paola, determinación letal media (CL<sub>50-48</sub>) del mercurio por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de La Salle 2007

<sup>27</sup> CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996. p. 22

reproducirse. Si las condiciones ambientales cambian a un nivel menos favorable, entonces el organismo, haciendo uso de procesos fisiológicos que le permiten compensar parcialmente el efecto, reacciona en sentido de contrarrestar la acción modificadora; eventualmente se alcanza un límite por encima del cual el organismo muere a causa de una condición ambiental drástica, como puede ser una temperatura alta, pH extremo o baja concentración del oxígeno disuelto.<sup>28</sup>

Las implicaciones de las acciones directas de los factores medioambientales presentes en las aguas naturales, las cuales modifican la acción de los contaminantes tóxicos son obvias. Si un organismo dado se encuentra ya bajo una condición de estrés o carga metabólica, dada por una condición ambiental, entonces el organismo se enfrentará a esta condición más la producida por la acción del contaminante tóxico y por consiguiente el organismo será menos capaz de soportar la acción del contaminante y mostrara un incremento considerable en su susceptibilidad. Entonces los factores medioambientales tendrán un comportamiento como si fuesen factores modificantes de la toxicidad del contaminante.<sup>29</sup>

#### 2.4.1.6 Condiciones abióticas como factores modificantes de la toxicidad

##### ❖ Temperatura

Las especies de organismos presentes en una comunidad acuática dada, están determinados por el régimen de temperatura del agua y existe un límite letal de temperatura tanto superior como inferior, más allá del cual el organismo no puede sobrevivir. Existen temperaturas óptimas para ciertos procesos de los microorganismos como el crecimiento, reproducción y desarrollo de ciertas actividades. Para la mayoría de los microorganismos más que un valor puntual, existe un rango óptimo de temperatura para las actividades metabólicas.<sup>30</sup>

La temperatura del agua puede modificarse por la descarga de aguas calientes o frías de los procesos industriales y el efecto se refleja en menor grado en lagos que en ríos y corrientes. Para proteger la vida acuática contra los cambios de temperatura, se deben tener en cuenta todos los factores que el cambio de temperatura puede modificar. Por ello la EPA (1999) recomienda para cada especie de organismo los siguientes factores:

- Mantener una temperatura que no cause letalidad en exposiciones cortas
- Mantener un máximo durante las estaciones frías que proteja contra la letalidad producida por las caídas repentinas de temperatura.

---

<sup>28</sup> ZAMBRANO y BELTRAN. Op cit., p. 12.

<sup>29</sup> Ibid., p. 17

<sup>30</sup> BERNAL y ROJAS. Op cit., p. 16

- Mantener un promedio semanal de temperatura en la estación cálida que proteja contra la carga metabólica sub. – letal.
- Tener en cuenta para ciertas especies los requerimientos específicos de temperatura, por ejemplo para obtener una reproducción exitosa se requiere un determinado nivel de temperatura.

#### ❖ Oxígeno Disuelto (OD)

El nivel de oxígeno disuelto para la mayoría de las corrientes se encuentra por debajo del nivel de saturación particularmente en el fondo de los lagos. La concentración puede fluctuar por la fotosíntesis de las algas, estando el OD por debajo de la saturación durante la noche y cerca de la saturación y a veces sobresaturada durante el día.

En muchos trabajos se considera al OD como el indicador de especies y se desarrollaron sistemas de clasificación del grado de contaminación con base en estos factores. Cuando las aguas se desoxigenan por la acción de las descargas con residuos orgánicos, se produce un decrecimiento dramático en las especies existentes y un cambio drástico en las mismas. Las poblaciones de organismos que viven en el fondo de los ríos, se reemplazan en casos extremos por un número grande de larvas rojas (contienen hemoglobina).<sup>31</sup>

Como el oxígeno disuelto se requiere para la respiración; la disminución en los niveles de éste, puede tener un efecto limitante para los organismos acuáticos. Los criterios modernos de calidad del agua reconocen que una reducción del OD por debajo del nivel natural tendrá un efecto drástico sobre los organismos y no existe un número que pueda usarse como criterio de nivel aceptable.

Se debe esperar que el estrés causado en los organismos por una reducción en el nivel de oxígeno disuelto, incrementa considerablemente la toxicidad de los contaminantes en el agua. En los últimos años se ha investigado mucho respecto y se ha encontrado un incremento de la toxicidad de ciertos metales y fenoles en relación con el grado de desoxigenación.<sup>31</sup>

Este comportamiento se basa en la relación incremento de la letalidad-disminución de oxígeno que entra en las branquias de los organismos prueba; la reducción de oxígeno, origina una mayor concentración de los contaminantes en las membranas de las branquias y por consiguiente una alta concentración de los tóxicos dentro de las branquias; si la toxicidad de una sustancia depende del pH, un cambio en el mismo puede reducir los niveles de OD.<sup>31</sup>

---

<sup>31</sup> CRUZ y DIAZ. Op cit., p. 17

### ❖ Concentración de hidrógeno – pH

Los efectos directos de pH sobre los organismos son graduales; el mayor efecto de este como factor modificante esta dado para sustancias que ionizan bajo la influencia del pH, como la mayoría las moléculas no disociadas, las cuales, pueden ser más tóxicas toda vez que ellas puedan penetrar las membranas celulares fácilmente, esta situación es opuesta para el caso de los metales en los cuales la forma disociada es más tóxica que la no disociada.<sup>32</sup>

### ❖ Dureza<sup>33</sup>

El calcio y en menor extensión el magnesio, son los cationes disueltos predominantemente en aguas naturales y son los principales responsables de la dureza de las aguas. Una clasificación de las aguas con respecto a la dureza se muestra en la siguiente:

TABLA 3. Clasificación de aguas según su Dureza

Tipo de agua	Concentración de $\text{CaCO}_3$
Blanda	0 a 75 mg/L $\text{CaCO}_3$
Moderadamente Dura	75 a 150 mg/L $\text{CaCO}_3$
Duras	150 a 300mg/L $\text{CaCO}_3$
Muy Duras	>300 mg/L $\text{CaCO}_3$

Fuente: CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996. Factores que afectan la toxicidad.

La mayoría de los metales son más tóxicos en aguas blandas que en aguas duras. La afectación de la dureza con los metales hace que las membranas celulares de las branquias sean más permeables, lo que ayuda a la entrada del metal en el organismo prueba. Los organismos que crecen en aguas blandas son más sensitivos que los de aguas duras ya que requieren menos tiempo para perder el calcio que se encuentra en el tejido de los mismos, involucrando así efectos en la resistencia del organismo.

## 2.5 GLIFOSATO

El Glifosato es una molécula formada por una fracción de glicina y un radical aminofosfato unido como sustituyente de uno de los hidrógenos del grupo amino.<sup>34</sup>

<sup>32</sup> RODRÍGUEZ, J. y ESCLAPÉS. Op cit., p. 4

<sup>33</sup> CRUZ y DIAZ BAEZ., Op cit. p. 17

<sup>34</sup> [http://www.dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/Glifosato.pdf](http://www.dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/Glifosato.pdf)

Como producto protector de cultivos, constituye uno de los descubrimientos agroquímicos más importantes de este siglo, siendo el herbicida de mayor uso en el mundo por ser efectivo, seguro y por que permite su aplicación de diversas maneras.

Las formulaciones de Glifosato se encuentran registradas en más de cien (100) países, incluyendo los Estados Unidos; en donde ha sido aprobado por la U.S. E.P.A. (Agencia de Protección Ambiental), para ser utilizado en más de sesenta cultivos agrícolas, en manejo de bosques sometidos a intervención para su conservación, y en sistemas de cultivos diferentes, incluidos el mantenimiento de canales y vías y los jardines públicos y domésticos. (130 aplicaciones en total).

Bajo los siguientes numerales se hará una presentación resumida para caracterizar los aspectos relevantes de la constitución químico biológica del herbicida Glifosato. La Literatura técnica disponible es abundante pero, para los fines del presente documento, la información seleccionada contiene los aspectos de mayor relevancia en cada tópico.<sup>35</sup>

#### 2.5.1 Características Generales

Glifosato es un herbicida no selectivo de acción sistémica, de amplio espectro, y adecuado para el control de muchas especies de malezas, en tratamientos de post emergencia al follaje. No actúa sobre las semillas que existieran por debajo del suelo y tampoco es absorbido por las raíces. En igualdad de condiciones también se puede decir que no es de acción residual prolongada y que no es ni actúa como herbicida esterilizante del suelo.

La casi totalidad de las formulaciones comerciales del Glifosato son fáciles de manejar, muy solubles en agua y químicamente muy estables en cualquier proporción. A lo anterior se adiciona la baja tensión de vapor, lo cual significa que las formulaciones de uso en el campo no sean volátiles.<sup>36</sup>

#### 2.5.2 Uso e historiales

El Glifosato se encuentra registrado desde 1971 y, en la actualidad, se usa ampliamente como un herbicida de amplio espectro, no selectivo, postemergente en muchos países del mundo. Se desplaza rápidamente de las hojas de las plantas tratadas a otras partes de la planta, incluidos los botones de las puntas de los tallos y de las raíces, y a los órganos subterráneos de almacenamiento, como rizomas y tubérculos. Si se aplica al suelo, el Glifosato presenta poca actividad ya que su fuerte unión a la materia orgánica del suelo hace que la sustancia no se

---

<sup>35</sup> [http://www.dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/Glifosato.pdf](http://www.dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/Glifosato.pdf)

<sup>36</sup> DINHAM, Barbara. Resistance to glyphosate. En: Pesticides News 41: 5, The Pesticides Trust. PAN-Europe. London, UK. 1998.

encuentre biológicamente disponible para las plantas. El Glifosato se ha utilizado ampliamente en Colombia y en muchos otros países por muchos años con propósitos agrícolas y de otro tipo. El uso de Glifosato en el programa de aspersión de coca y amapola se presenta en la siguiente tabla que representa una fracción relativamente pequeña del total de su uso en Colombia.<sup>37</sup>

TABLA 4. Uso de Glifosato en las aspersiones para la erradicación en Colombia

Año	Cantidad vendida en Colombia (L) <sup>a</sup>	Cantidad usada en la erradicación de cultivos ilícitos(L) <sup>b</sup>	Porcentaje de la cantidad total vendida
2000	7'037.500	603.970	8,6
2001	9'473.570	984.848	10,4
2002	Sin dato	1'061.538	11,0 <sup>c</sup>
2003		1'381.296	14,0 c
2004		1'420.130	14,0 c

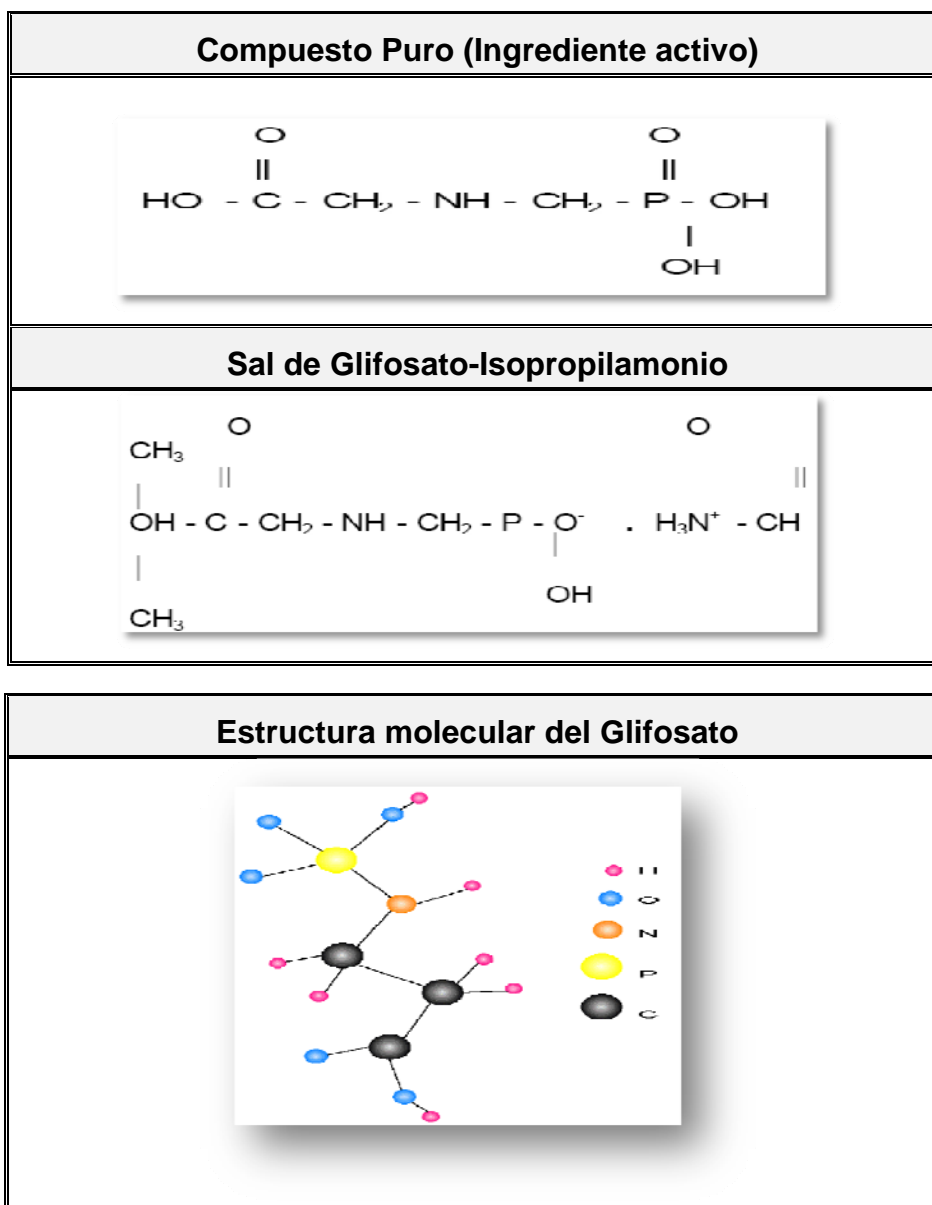
Fuente: (a) Datos del ICA, 2003; (b) Datos de la Dirección Nacional de Estupefacientes, 2002; Policía Nacional Dirección Antinarcóticos, 2005; (c) Estimados a partir del uso total en 2001 pero, probablemente, menores que este cifra.

### 2.5.3 Fórmula química del Glifosato

Composición: Sal isopropilamina de N-(Fosfono metil) glycina.  
ROUNDUP®: Solución viscosa de color ambarino claro  
pH 4,4 a 4,9  
Gravedad específica, 1,17;  
Olor tenue a amina

<sup>37</sup> NIVIA, Elsa. Efectos sobre la salud y el ambiente de herbicidas que contienen glifosato. RAPALMIRA. PAN-Colombia. Cali 2002

FIGURA 2. Fórmula estructural



Fuente: Plan de Manejo Ambiental Radicación de Cultivos Ilícitos, 2000

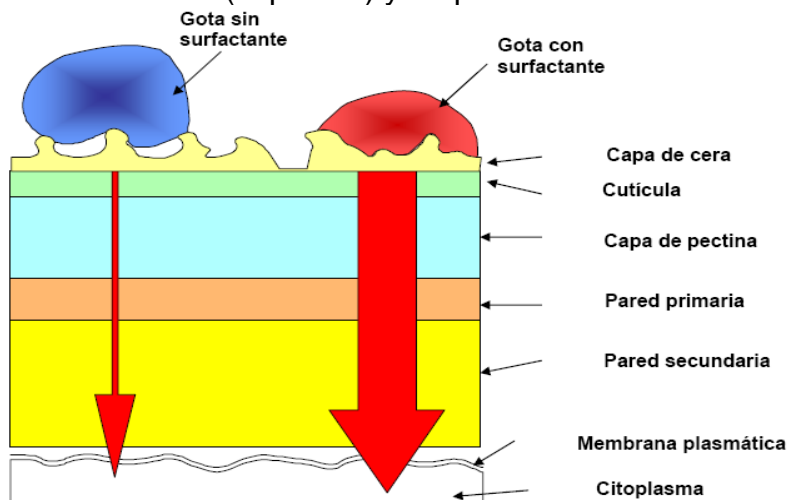
### 2.5.3.1 Formulantes y adyuvantes

Los formulantes son sustancias que se añaden al ingrediente activo de un plaguicida en el momento de su uso para mejorar su eficacia y facilidad de uso. Los formulantes comprenden un rango muy amplio de sustancias, que van desde solventes hasta surfactantes y modificadores del pH.<sup>38</sup>

La formulación de Glifosato que se usa en Colombia incluye varios formulantes. Los adyuvantes se adicionan a los plaguicidas formulados en el momento de su aplicación y, como los formulantes, incrementan la eficacia, o facilitan su uso en condiciones especiales en las cuales las plagas son difíciles de controlar o cuando se necesita minimizar los efectos no deseados sobre los objetos no blanco. En el programa de control de Colombia, el adyuvante Cosmo-Flux® se agrega en el momento de la aspersión.<sup>38</sup>

La relativa gran solubilidad en el agua y la naturaleza iónica del Glifosato retardan su penetración a través de la cera de la cutícula de la planta (Figura 3). Por esta razón, el Glifosato se formula comúnmente con surfactantes que disminuyen la tensión superficial de la solución e incrementan la penetración en los tejidos de las plantas.<sup>38</sup>

FIGURA 3. Penetración del herbicida Glifosato a través de la cera de la cutícula en ausencia de surfactante (izquierda) y en presencia de surfactante (derecha).



Fuente: Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante aspersión aérea con el herbicida Glifosato y de los cultivos ilícitos en la salud humana y en el medio ambiente.

<sup>38</sup> Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con el herbicida Glifosato (PECIG) y de los cultivos ilícitos en la salud humana y el medio ambiente. Informe preparado para la Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas (CICAD), División de la Organización de los Estados Americanos (OEA) Washington, D.C., Estados Unidos de América, 2005

#### 2.5.4 Surfactantes en la formulación del Glifosato

La formulación del Glifosato tal y como se usa en Colombia en el programa de erradicación por aspersión contiene varios formulantes que son comunes en los productos comerciales para uso agrícola.<sup>39</sup>

##### ❖ Cosmo-flux® 411F

Como se mencionó anteriormente, un adyuvante, el Cosmo-Flux®, se agrega al Glifosato en el momento de su aspersión. El Cosmo-Flux® es un adyuvante agrícola que contiene surfactantes no iónicos (una mezcla de polietoxilatos lineal y aril – 17% peso/volumen) e isoparafinas (83% v/v). Adyuvantes como éstos se agregan comúnmente a las formulaciones de plaguicidas para mejorar la eficacia por medio de varios mecanismos. Por ejemplo, los surfactantes como los polietoxilatos en el Cosmo-Flux® aumentan la eficacia al incrementar la superficie de adherencia del blanco, promover una mejor disseminación de las gotas, una mejor dispersión, la prevención de la agregación y el aumento de la penetración de los herbicidas en los tejidos de la planta objetivo por medio de la reducción de la tensión superficial de las plantas. Los surfactantes pueden también romper la cutícula de cera no hidrosoluble y, así, incrementar la penetración del agente activo del herbicida.<sup>40</sup>

#### 2.5.5 Tipos de Formulaciones Comerciales<sup>41</sup>

El Glifosato se comercializa en la forma de concentrados solubles de la sal isopropanolamina del N- (Fosfonometil) glicine, en los cuales se integran el Glifosato y los ingrediente inertes requeridos para cada tipo de formulación comercial. Aunque la forma de comercialización más común son los concentrados solubles en agua, también es posible tener acceso a las siguientes preparaciones para uso específicos.

En el mercado colombiano existen las presentaciones comerciales formuladas por empresas establecidas en el país, con registros de venta vigentes en Agosto de 1998, tales como:

- Ingrediente de grado químicamente puro (Para uso de laboratorio).
- Ingrediente de grado técnico.
- Concentrados emulsionables y concentrados en emulsiones invertidas
- Concentrados solubles en agua, de diferente concentración
- Polvos mojables, solubles en agua y para espolvoreo y Formulaciones fumigantes

---

<sup>39</sup> Ibid., p. 23

<sup>40</sup> Instituto Colombiano Agropecuario ICA. División Insumos Agrícolas. Listado general de plaguicidas registrados hasta agosto 26 de 1998. Santafé de Bogotá. 21 p

<sup>41</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

- Formulaciones granulares, Formulaciones en peletas y Formulaciones encapsuladas.

TABLA 5. Identificación del Glifosato

EL GLIFOSATO SE PUEDE IDENTIFICAR CON LOS SIGUIENTES NOMBRES	
<b>Nombre Químico:</b>	N - (Fosfonometil) glicina (I.U.P.A.C. y C.A.)
<b>Nombre Común:</b>	Glifosato (E-ISO, F-ISO, )
<b>Nombres Comerciales:</b>	Roundup®, Rodeo®, Bronco®, Landmaster®, Ranger®, Accord® (Monsanto, Inc.), Rattler® (Helena Inc.), Silhouette®(Cenex, Land O'Lakes).
<b>Grupo Químico:</b>	N-fosfonoaminoácido

Fuente: [http://www.dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/glifosato.pdf](http://www.dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/glifosato.pdf)

#### 2.5.6 Surfactantes e ingredientes inertes de la formulación básica

El proceso de preparación de las formulaciones de uso comercial de cualquier plaguicida, incluyendo el Glifosato, es una tarea compleja y aunque se disponga de procedimiento básico de referencia, siempre existirán causales que obliguen a introducir modificaciones en la selección y calidad de las materias primas, con énfasis especial en los solventes y en las mezclas o surfactantes aniónicos y no iónicos. Para el caso del Glifosato se dispone de la siguiente información.

De acuerdo con el Fabricante, la formulación típica del Glifosato de uso comercial, en su presentación de líquido soluble, corresponde a:<sup>42</sup>

TABLA 6. Formulación típica

Ingrediente activo:	Glifosato, N-(Fosfonometil) glicina, en sal isopropilamina, 41,0 %
Inertes:	(Seboaminas etoxiladas)* 59,0 %

Fuente: [http://www.dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/glifosato.pdf](http://www.dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/glifosato.pdf)

Algunas de las formulaciones comerciales del Glifosato incorporaban un surfactante conocido como POEA, en una proporción cercana al 15 %. Este compuesto, según varias investigaciones toxicológicas, puede ser causa de daños gastrointestinales, ciertas afecciones al sistema nervioso central, algunos

<sup>42</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

problemas respiratorios y ser capaz de destruir los glóbulos rojos en la sangre humana.<sup>43</sup>

Del POEA se dice, también, que puede contener una impureza identificada como 1- 4 Dioxano la cual, se menciona igualmente, que ha demostrado tener capacidad cancerígena para animales y de causar daño en el hígado y los riñones de los humanos.

TABLA 7. Presentaciones Comerciales de Glifosato

Nombre Comercial	Firmas Productoras	Concentración *	Registro ICA
Faena 320	Proficol SA	320 g/L	1800
Faena 320 SL	Monsanto Colombiana	320 g/L	1775
Fuete SL	Monsanto Colombiana	480 g/L	2475
Ranger SL	Monsanto Colombiana	240 g/L	2312
Rocket SG	Monsanto Colombiana	74-75%	1993
Rocky SL	Monsanto Colombiana	120 g/L	1757
Roundup madurante SL	Monsanto Colombiana	480 g/L	2670
Roundup SG	Monsanto Colombiana	74-75%	2488
Roundup SL (Sal)	Monsanto Colombiana	480 g/L	756
Glifosato 48 SL	Coagro Ltda	48%	2699
Clinofox	Cedar Crystal Chemical	480 g/L	2490
Glifosol SL	Colijap Ind. Agroquímica	480 g/L	2337
Glyfosan SL	Químicos e Insumos Agrícolas	480 g/L	2234
Glyphogan 480 SL	Magan de Colombia	480 g/L	2530
Candela 120 SL	Agroser SA	120 g/L	2233
Candela XL	Agroser SA	120 g/L	2800
Coloso SL	Basf Química Colombiana	480 g/L	2609
Panzer 320 SL	Invequímica SA	320 g/L	2569
Panzer 480 SL	Invequímica SA	480 g/L	2399
Regio SL	Quimor SA	480 g/L	2211

Fuente. Documento Plan de Manejo Ambiental Erradicación de Cultivos Ilícitos. 2000

## 2.5.7 Propiedades, Toxicidad Y Ecotoxicidad

### 2.5.7.1 Propiedades Físico - Químicas Generales

Por la naturaleza de sus propiedades físicas y químicas el Glifosato es un plaguicida perteneciente al grupo de los herbicidas de acción sistémica, por la vía del follaje. No es apto para tratamientos de control de malezas por la vía del sistema radicular. El Glifosato es una solución líquida, clara, viscosa y de color ambarino; normalmente tiene una concentraciones de iones H de 4,4 a 4,9 y una

<sup>43</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

gravedad específica de 1,17. Prácticamente inoloro o con un ligero olor a amina; tiene un peso molecular de 169,08 y un punto de fusión de 200o C.<sup>44</sup>

TABLA 8. Propiedades Fisicoquímicas

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS	
<b>Fórmula Molecular</b>	C3 H8 N O5 P
<b>Peso Molecular</b>	169.1 g/mol
<b>Estado Físico</b>	Sólido blanco
<b>Olor</b>	Inodoro
<b>Densidad</b>	0.5 g/ML
<b>Punto de Fusión</b>	184,5 ° C
<b>Presión de Vapor</b>	1,84 x 10 -7 mm de Hg a 45°C
<b>Punto de Ebullición</b>	Se descompone
<b>pH en solución al 1%</b>	2,5
<b>Solubilidad en Agua</b>	12 .000 ppm a 25°C
<b>Otros Solventes</b>	Ninguno
<b>Estabilidad</b>	32 días a 25°C y pH = 5,7 ó 9
<b>Coefficiente de Partición octanol/agua</b>	POW = -2,8
<b>Constante de Ley de Henry</b>	< 7 x 10-11
<b>Corrosividad</b>	No corrosivo
<b>Propiedades explosivas (Explosividad )</b>	No explosivo
<b>Solubilidad en agua y otros Solventes orgánicos</b>	Solubilidad (PAI): 1.16 g/100ml a 25 °C. Muy soluble. Insoluble en acetona, benceno y etanol dado para Glifosato PAI.
<b>Concentración</b>	74,7% p/p (747 gr/kg)
<b>Densidad relativa a 20°C</b>	35lb/cu. Ft.

Fuente: [http://www.mindefensa.gov.co/dayTemplates/Glifosato/informe\\_glifosatooea.pdf](http://www.mindefensa.gov.co/dayTemplates/Glifosato/informe_glifosatooea.pdf)

#### 2.5.7.2 Toxicidad

La capacidad tóxica de cualquier plaguicida, incluyendo el Glifosato, está condicionada a varios factores, a partir de una cantidad o dosis determinada (UMBRAL) cuya interpretación, en un lenguaje sencillo, podría ser "el punto al cual un determinado estímulo es suficientemente fuerte para ser percibido, para causar una respuesta, para lograr acceso a algún punto, o para causar el momento de algo". Con este parámetro se puede deducir, entonces, que cada plaguicida,

<sup>44</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

incluyendo el Glifosato, tiene una dosis sin efecto en cada organismo viviente, la cual puede y debe ser tomada en cuenta para calcular y establecer una dosis de referencia y de ahí una IDA de acuerdo con un modelo de exposición o sea la "Ingesta diaria aceptable" para humanos.<sup>45</sup>

El grado de peligrosidad de cada plaguicida se mide por los valores de la DOSIS LETAL MEDIA (DL<sub>50</sub>) la cual es, en términos prácticos, la mínima cantidad requerida, en una sola dosis, para matar a la mitad de los individuos de un grupo homogéneo, de por lo menos 10, en condiciones específicas de experimentación y sometidos a observación durante 6 horas a 15 días después del tratamiento.<sup>45</sup>

#### ❖ Toxicidad aguda

Los plaguicidas que contienen Glifosato como el ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> están registrados en la clase toxicológica IV, levemente tóxicos, basados en la DL<sub>50</sub> oral a ratas del ingrediente activo, considerada mayor de 5.000 mg/kg (anteriormente se consideraba de 4.320 mg/kg, clase toxicológica III). Pero en Estados Unidos estos herbicidas ya han sido reclasificados por la Agencia de Protección Ambiental EPA (1999) en la clase II, altamente tóxicos, por ser irritantes de los ojos. La EPA (1999) lo tiene clasificado como un irritante medio, pero la Organización Mundial de la Salud ha encontrado efectos más serios; en varios estudios con conejos fue calificado como "fuertemente" irritante o "extremadamente" irritante.<sup>46</sup>

El ingrediente activo Glifosato solo está clasificado en categoría I, extremadamente tóxico. Tanto el Glifosato solo como los productos que lo contienen son más tóxicos por vía dermal e inhalatoria que por ingestión, las vías comunes en la exposición ocupacional. En varios ensayos, la inhalación de ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> en ratas causó signos de intoxicación en todos los grupos estudiados y aún en las concentraciones más bajas probadas. Los síntomas incluyeron secreción nasal oscura, jadeo, ojos congestionados, actividad reducida, pelo erizado, pérdida de peso corporal y los pulmones se encontraron congestionados con sangre.<sup>46</sup>

El ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> está en varios países entre los primeros plaguicidas que causan incidentes de envenenamiento en humanos. La mayoría de éstos han involucrado irritaciones dermales y oculares en trabajadores, después de exposición durante la mezcla, cargue o aplicación. También se han reportado náuseas y mareos después de la exposición, así como problemas respiratorios, aumento de la presión sanguínea y reacciones alérgicas.<sup>47</sup>

---

<sup>45</sup> DNE, Identificación del herbicida Glifosato propiedades y toxicidad. 2000 p. 4

<sup>46</sup> MEISTER, Richard. Farm Chemicals Handbook. Meister Publishing Company. Willoughby, USA. 1995. p 922

<sup>47</sup> NIVIA. Op cit., p 21

Gran parte de estos síntomas están actualmente siendo padecidos por los indígenas Yanaconas habitantes del Macizo Colombiano en el Departamento del Cauca en Colombia, particularmente niños, quienes están recibiendo fumigaciones indiscriminadas sobre casas de habitación, escuelas y personas trabajando en los campos de cultivo (adicionalmente se están destruyendo los pastos de los que depende la alimentación de los animales, y cultivos de papa, maíz, cebolla, ullucos, cilantro y otros, de los que depende la sobrevivencia de estas comunidades). Se ha considerado que el surfactante que lleva el ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> es el causante principal de la toxicidad de esta formulación. El POEA (polioxietileno-amina) tiene una toxicidad aguda más de tres veces mayor que la del Glifosato, causa daño gastrointestinal y al sistema nervioso central, problemas respiratorios y destrucción de glóbulos rojos en humanos. Además, está contaminado con 1-4 dioxano, el cual ha causado cáncer en animales y daño a hígado y riñones en humanos. La EPA (1999) ha encontrado que exposiciones a residuos de Glifosato en aguas de consumo humano por encima del límite máximo autorizado de 0.7 mg/l, pueden causar respiración acelerada y congestión pulmonar.<sup>48</sup>

#### ❖ Toxicidad crónica

El Glifosato también se ha encontrado tóxico a largo plazo en estudios con animales. Con dosis altas en ratas (900-1.200 mg/kg/día), se ha reportado disminución del peso del cuerpo en hembras; mayor incidencia de cataratas y degeneración del cristalino en machos y mayor peso del hígado en machos. En dosis bajas (400 mg/kg/día) ocurrió inflamación de la membrana mucosa estomacal en los dos sexos. En ratones con dosis altas (alrededor de 4.800 mg/kg/día) se presentó pérdida de peso del cuerpo, excesivo crecimiento y posterior muerte de células hepáticas particulares e inflamación crónica de los riñones en machos; en hembras ocurrió excesivo crecimiento de células de los riñones. A dosis bajas (814 mg/kg/día) se presentó excesiva división celular en la vejiga urinaria.<sup>49</sup>

#### ❖ Efectos reproductivos

En pruebas de laboratorio con ratas y conejos el Glifosato afectó la calidad del semen y la cantidad de espermatozoides. De acuerdo con la EPA (1999), exposiciones continuadas a residuos en aguas en concentraciones por encima de 0.7 mg/L pueden causar efectos en la reproducción en seres humanos.<sup>49</sup>

---

<sup>48</sup> NIVIA. Op cit., p 21

<sup>49</sup> COX, Caroline. Glyphosate : Toxicology and Human exposure and ecological effects En: Journal of Pesticides Reform, Volume 15, Number 3, Fall 1995. Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides, Eugene, OR. USA. 13 p.

#### ❖ Acción cancerígena

La EPA (1999) tuvo inicialmente clasificado al Glifosato como clase "D": "no clasificable como carcinógeno humano". Posteriormente, a comienzos de la década de 1990, lo ubicó en clase "C": "Posible carcinógeno humano. Actualmente lo tiene clasificado como Grupo E, "evidencia de no carcinogénesis en humanos". Cuando se emitió esta clasificación se añadió que la clasificación se basaba en la evidencia disponible hasta el momento y que no debía ser interpretada como una conclusión definitiva de que el producto no fuera un carcinógeno en cualquier circunstancia. Esta afirmación probablemente se debió a que el potencial del Glifosato para causar cáncer ha estado sujeto a controversia desde los primeros estudios a comienzos de la década de 1980.<sup>50</sup>

Las dudas sobre el potencial carcinogénico del Glifosato persisten, porque este ingrediente contiene el contaminante N-nitroso Glifosato (NNG) a 0.1 ppm o menos, o este compuesto puede formarse en el ambiente al combinarse con nitrato (presente en saliva humana o fertilizantes), y es conocido que la mayoría de compuestos N-nitroso son cancerígenos. Y no existe nivel de seguridad frente a sustancias cancerígenas. Adicionalmente, en el caso del ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> el surfactante POEA está contaminado con 1-4 dioxano, el cual ha causado cáncer en animales y daño a hígado y riñones en humanos. El formaldehído, otro carcinógeno conocido, es también otro producto de descomposición del Glifosato.

#### ❖ Acción mutagénica

Ninguno de los estudios sobre mutagénesis requeridos para el registro del Glifosato ha mostrado acción mutagénica. Pero los resultados son diferentes cuando los estudios se realizan con formulaciones comerciales a base de Glifosato: en estudios de laboratorio con varios organismos se encontró que el ROUNDUP® y el Pondmaster® (otra formulación) incrementaron la frecuencia de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo en mosca de la fruta; el ROUNDUP® en dosis altas, mostró un incremento en la frecuencia de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos humanos y fue débilmente mutagénico en la bacteria *Salmonella*. También se ha reportado daño al DNA en pruebas de laboratorio con tejidos y órganos de ratón.<sup>51</sup>

#### ❖ Toxicidad Acuática

El Glifosato puede contaminar cuerpos de agua superficial ya sea por aspersión directa, por efecto de la deriva, o porque este pesticida es lixiviado a los acuíferos. Su persistencia en el agua es más corta que en el suelo, por su capacidad de sorción a partículas en suspensión como materia orgánica y minerales, a

---

<sup>50</sup> COX. Op cit., p. 29

<sup>51</sup> [http://www.geocities.com/rap\\_al/efectosGlifosato.htm](http://www.geocities.com/rap_al/efectosGlifosato.htm)

sedimentos o por efecto de la descomposición microbiológica. Sin embargo, puede persistir por más tiempo en los sedimentos.

Debido a los altos valores de precipitación existente en las zonas donde tienen lugar los programas de erradicación de la coca, el Glifosato es rápidamente transportado por la escorrentía desde los suelos a aguas subterráneas.<sup>52</sup>

❖ Toxicidad en animales.<sup>53</sup>

Presenta baja toxicidad en animales, así:

Oral: DL<sub>50</sub> 5600 mg/kg en ratas.

Dérmica: DL<sub>50</sub> 5000 mg/kg en conejos.

Inhalatoria: LC<sub>50</sub> >12.2 mg/L de aire para 4 horas de exposición. (Ratas).

❖ Toxicidad en humanos.

En humanos: la toxicidad aguda es baja. No hay toxicidad crónica descrita. Los datos disponibles sobre exposición en el trabajo de quienes aplican el Glifosato indican que los niveles de exposición están muy por debajo del NOAEL (Non Observed Adverse Effects Level) obtenido con los experimentos correspondientes en animales.<sup>52</sup>

## 2.5.8 Efectos en El Medio Ambiente

### 2.5.8.1 Destino ambiental

El destino ambiental del Glifosato ha sido ampliamente cuestionado; a continuación se resumen únicamente los aspectos más relevantes al agua y al suelo/sedimento.

Como resultado de sus propiedades fisicoquímicas específicas, el Glifosato es inmóvil o sólo ligeramente móvil en el suelo. El metabolito del Glifosato, el ácido aminometil fosfórico (AMPA), es algo más móvil en el suelo pero se descompone rápidamente, lo cual resulta en la lixiviación de cantidades mínimas en los suelos destinados a la agricultura normal. La fuerte unión del Glifosato con el suelo origina una pérdida casi inmediata de la actividad biológica; sin embargo, los residuos de la unión se descomponen lo suficientemente rápido para hacer que no se presente acumulación, aun después de muchos años de uso regular. La contaminación de las corrientes subterráneas como resultado del uso normal de

---

<sup>52</sup> BRAVO, Elizabeth. Impactos del Glifosato en el Medio Ambiente,  
[http://webs.chasque.net/~rapaluy1/Glifosato/Impactos\\_Glifosato\\_Medio\\_Ambiente.html](http://webs.chasque.net/~rapaluy1/Glifosato/Impactos_Glifosato_Medio_Ambiente.html)

<sup>53</sup> [www.cetos.org](http://www.cetos.org)

Glifosato es poco probable excepto en el caso de un derrame apreciable o de otra liberación accidental o descontrolada de cantidades considerables al ambiente.<sup>54</sup>

La gran solubilidad del Glifosato y sus sales en el agua sugiere que son móviles en el agua; sin embargo, la unión fuerte y rápida a los sedimentos y partículas, especialmente en aguas poco profundas y turbulentas, o en aquellas que llevan grandes cargas de partículas, remueve el Glifosato de la columna de agua (Tooby, 1985). En el uso agrícola normal, no se espera que haya escape o lixiviación a las aguas superficiales.<sup>54</sup>

También se ha caracterizado la disipación del Glifosato del follaje tratado y de los desechos de las hojas. Como era de esperarse, la mayor parte del Glifosato rociado en las plantas penetra en los tejidos de las plantas después de la aplicación, pero otro poco queda disponible para ser arrastrado por las lluvias durante varios días después de la aplicación. Si la planta muere como resultado de esta exposición, el Glifosato estaría presente en los tejidos muertos y en descomposición. Los residuos de Glifosato en los desechos de las hojas se disipan rápidamente con un tiempo de desaparición del 50% (TD<sub>50</sub>) de 8-9 días en condiciones templadas de los bosques.<sup>55</sup>

#### 2.5.8.2 Vías de exposición en el suelo, el aire, el agua y otros medios

Existen varias vías a través de las cuales el Glifosato y los adyuvantes pueden entrar en contacto con el ambiente (Figura 4).

El depósito en el cultivo objetivo o blanco es el resultado deseado de la operación; sin embargo, para el propósito de la evaluación de los riesgos en humanos y en el ambiente, son importantes las exposiciones que resultan del movimiento y el depósito por fuera del cultivo. La deriva de la aspersión puede originar la desviación por fuera del cultivo objetivo y puede generar efectos adversos en plantas y animales que no son el blanco. Dada la fuerte adsorción del Glifosato al suelo, su depósito en los terrenos cultivados probablemente no tenga efectos significativos en organismos no blanco; sin embargo, la lixiviación de los residuos unidos a las partículas del suelo puede causar contaminación de las aguas superficiales con dichos residuos.<sup>55</sup>

El depósito directo y la deriva de la aspersión pueden originar contaminación con Glifosato de las aguas superficiales locales, si éstas se encuentran en el corredor de rociado o por la deriva de la aplicación. Según sea la profundidad de las aguas, la turbulencia, el flujo y las partículas suspendidas, se podría presentar una exposición de los organismos acuáticos tanto al Glifosato como a cualquiera de los adyuvantes presentes en la mezcla del rociado. Los organismos presentes en el

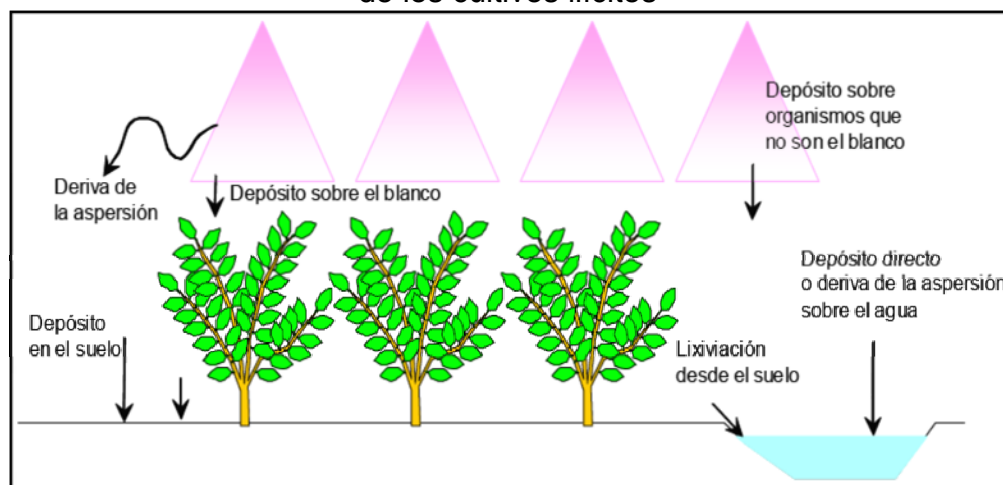
---

<sup>54</sup> Smith EA, Oehme FW. The biological activity of glyphosate to plants and animals: A literature review. 1992. Cap. p. 34:531-543.

<sup>55</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

cultivo durante la aspersión estarían expuestos a las gotas del rocío y recibirían una dosis teórica, según el área de la superficie expuesta y la masa corporal.<sup>56</sup>

FIGURA 4. Diagrama que muestra las rutas de exposición en diversos compartimentos ambientales cuando se usa el Glifosato para el control de los cultivos ilícitos



Fuente: Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante aspersión aérea con el herbicida Glifosato y de los cultivos ilícitos en la salud humana y en el medio ambiente.

#### 2.5.8.3 Comportamiento en el Agua

Aunque el comportamiento de los eventuales contaminantes de las fuentes de agua, derivados de la molécula parental del Glifosato, no tiene significación especial en los ecosistemas aprovechados para la explotación de cultivos ilícitos, si resulta oportuno hacer algunos comentarios sobre el particular aprovechando la disponibilidad de algunas informaciones en la literatura internacional. La revisión generalizada del gran acopio de informaciones técnicas permite conceptuar que el uso normalizado del Glifosato tiene pocas probabilidades de contaminar Corrientes de agua, como consecuencia de la escorrentía o la percolación de residuos provenientes de aplicación del herbicida al suelo o al follaje.<sup>57</sup>

La presencia de residuos es evidente, en cantidades significativas, si el compuesto se utiliza como un herbicida acuático y, por otra parte, en fuentes estáticas de agua, la cantidad de residuos declina más bien en forma acelerada, por efecto del proceso de adsorción en las partículas de materiales existentes en suspensión o en el fondo de los depósitos. En condiciones de agua corriente el proceso es el mismo pero las partículas del compuesto pueden ser detectadas a una buena

<sup>56</sup> Smith EA, Oehme FW. The biological activity of glyphosate to plants and animals: A literature review. 1992. Cap. p. 34:531-543.

<sup>57</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

distancia, corriente abajo, desde el sitio original del tratamiento o de contaminación.<sup>58</sup>

#### ❖ Constante de Disociación

Siendo el Glifosato una especie polar y que usualmente presenta una elevada solubilidad en agua y bastante baja en muchos disolventes orgánicos de carácter apolar, se dice que éste presenta ionización del grupo amino a pH de <2, del grupo amino y el hidrogenión libre de la fracción de ácido fosfónico a 2,6, del hidrógeno del grupo carboxilo a pH de 5,6 y de los tres hidrogeniones de los grupos ácidos a pH de 10,6.<sup>58</sup>

#### ❖ Hidrólisis

La hidrólisis del Glifosato en soluciones amortiguadoras (buffers) es muy lenta. Después de 32 días, 6,3% de la actividad aplicada fue recuperada como AMPA después de aplicar 14C-Glifosato a proporciones de 25 y 250 mg/L a soluciones amortiguadoras a pH de 3, 6 y 9 (Monsanto, 1.978b). Tales pruebas se llevaron a cabo a 5 y 35°C. En aguas de origen natural, Glifosato se liga rápidamente a la materia sólida disuelta y Suspendida.<sup>58</sup>

#### ❖ Persistencia de partículas de glifosato en fuentes contaminadas de agua

La gran mayoría de los especialistas coincide en afirmar que el rápido proceso de adsorción de las partículas de Glifosato en el suelo es un comportamiento propio del grupo de plaguicidas que no poseen las características químicas que les permite percolarse y llegar a contaminar las fuentes de agua superficiales o subterráneas, a menos que tuviera lugar algún proceso de desorción, lo cual es poco probable que ocurra en forma natural.<sup>58</sup>

A pesar de lo anterior, si se pueden encontrar informaciones aisladas sobre la detección de partículas de Glifosato en algunos depósitos de agua arrastrados hasta ellos por el proceso de escorrentía o por la deriva de partículas provenientes de tratamientos cercanos de control de malezas efectuados con equipos de aplicación terrestre o aérea.

La persistencia de partículas del producto en el agua ha demostrado, sin embargo, que puede tener una duración de 12 a 60 días. En esos estudios también se pudo demostrar que la persistencia de las partículas del herbicida fue algo mayor en los sedimentos del fondo de las fuentes contaminadas de agua.<sup>58</sup>

Aunque la ruta de degradación de los residuos del Glifosato en el agua, depende del pH, de la temperatura y de la presencia de microorganismos, la mayoría de los

---

<sup>58</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 23

ambientes acuáticos tropicales que accidentalmente pudieran resultar contaminados con el herbicida provenientes de aplicaciones en dosis normales de uso fitosanitario, poseen las condiciones ideales para facilitar el proceso de rápida degradación y metabolización, sin dar espera para que los residuos se acumulen en los tejidos de los peces. Debe tenerse en cuenta, por otra parte, que cualquier sistema de control de malezas acuáticas, incluyendo el uso de herbicidas químicos, facilita la destrucción de algunos organismos del grupo de los macroinvertebrados, existentes en el acuasistema, por efecto de la predación de organismos superiores o por el desbalance nutricional que se origina con cualquier reducción de la población de malezas.<sup>59</sup>

#### 2.5.8.4 Comportamiento en Suelos

##### ❖ Constante de Adsorción<sup>59</sup>

El efecto de adsorción es tan acentuado y tiene lugar en tan corto tiempo que todas las pruebas siguen demostrando que no hay lugar a lixiviación, por lo cual también se puede anticipar que son muy pocas las probabilidades de contaminación de aguas subterráneas, a partir de la contaminación del suelo.

El Glifosato es adsorbido y rápidamente fijado por el suelo. La materia orgánica, la arcilla, el sedimento y la arena contenidos en el suelo, y el pH del mismo, influyen en el proceso en forma mínima.

##### ❖ Movilidad

Dada su alta afinidad por los componentes del suelo, como ya se señaló, el Glifosato es prácticamente inmóvil con una mínima probabilidad de transporte por lixiviación o arrastre por escorrentía.

En un estudio en cromatografía de capa fina de suelos arenoso-gredoso, aluvial-arenoso-gredoso y arenoso-gredoso, se encontró que Glifosato presenta un valor de R<sub>f</sub> (movilidad en la fase fija) de entre 0,14 y 0,2.

El proceso de translocación de los herbicidas se puede lograr por varias rutas, incluyendo el arrastre de partículas por las corrientes de aire, por la evaporación y, en alguna forma, por las corrientes de agua. Se sabe, sin embargo, que la baja presión de vapor de Glifosato hace que en el compuesto se de una mínima o ninguna volatilidad, que la percolación de residuos en el suelo es negligible y, por la gran magnitud del proceso de adsorción y el resto de evidencias disponibles, catalogarlo como de muy baja absorción radicular y nula movilidad en el suelo.<sup>59</sup>

---

<sup>59</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 21

#### ❖ Vías de Degradación

Para la degradación de Glifosato, la transformación microbiana es tal vez la principal vía, pasando por intermediarios fugaces como AMPA, sarcosina y formaldehído, a bióxido de carbono, en el cual se detecta la mayor cantidad de radioactividad recuperada en diferentes estudios, con el 14C-Glifosato radiomarcado.

#### ❖ Degradación Abiótica

Las cantidades de Glifosato degradadas por formas no microbianas de descomposición, resultan despreciables. La fotodegradación por la luz solar de Glifosato aplicado al suelo, es insignificante, 4,5 Kg/ha , a un suelo arenoso-gredoso.<sup>60</sup>

#### ❖ Biodegradación

Varias cepas bacterianas se encuentran en capacidad de descomponer y degradar el Glifosato. La tasa de degradación de Glifosato en suelos, es rápida ya que se describe como una cinética lineal de primer orden. El principal metabolito de Glifosato en condiciones aerobias es el AMPA, ya que las cantidades en suelo arenoso-gredoso y aluvial-gredoso son de 27 y 29%, respectivamente, de la radioactividad aplicada.<sup>60</sup>

La mineralización de Glifosato en el suelo, ocurre en condiciones aerobias y anaerobias en el laboratorio y, aunque las tasas difieren de manera apreciable, los resultados dependen principalmente de la tasa de respiración del suelo, y de la temperatura.<sup>58</sup>

##### ▪ Persistencia y Tiempo de vida media en diferentes tipos de suelos

El Glifosato tiene una moderada persistencia con una vida media típica (TD50, tiempo requerido para la desaparición de la mitad de la cantidad inicial de una sustancia en un medio determinado) de 47 días. Todos los cultivos pueden ser sembrados o transplantados inmediatamente después de la aplicación. Para los estudios de laboratorio, se debe observar la vida media típica alrededor de 25 días.

#### 2.5.8.5 Comportamiento en la atmósfera.

No resulta pertinente el estudio de éste aspecto, pues Glifosato es un compuesto no volátil (su presión de vapor es <10<sup>-7</sup> mmHg y su constante de partición agua-aire, constante de la ley de Henry, menor de 3 x 10<sup>-11</sup> atm).<sup>60</sup>

---

<sup>60</sup> Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos. Op cit., p. 21

### 3. METODOLOGIA

A continuación, se muestran cada uno de los pasos que se siguieron para el desarrollo del proyecto de investigación; el diseño experimental, como se preparó el agua reconstituida, el medio Bristol, el cuidado de los cultivos, pruebas de sensibilidad, pruebas de toxicidad y se nombran los materiales de laboratorio, reactivos a utilizar, equipos y cada uno de los pasos a seguir para conseguir los objetivos propuestos.

#### 3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

En la investigación se tuvieron en cuenta diferentes variables significativas como:

##### 3.1.1 Variable independiente

La variable que se manejó en las pruebas de toxicidad fue la concentración de la sustancia prueba o de interés (Glifosato – ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>). Buscando establecer un efecto sobre una determinada población en este caso *Daphnia pulex*.

##### 3.1.2 Variables dependientes

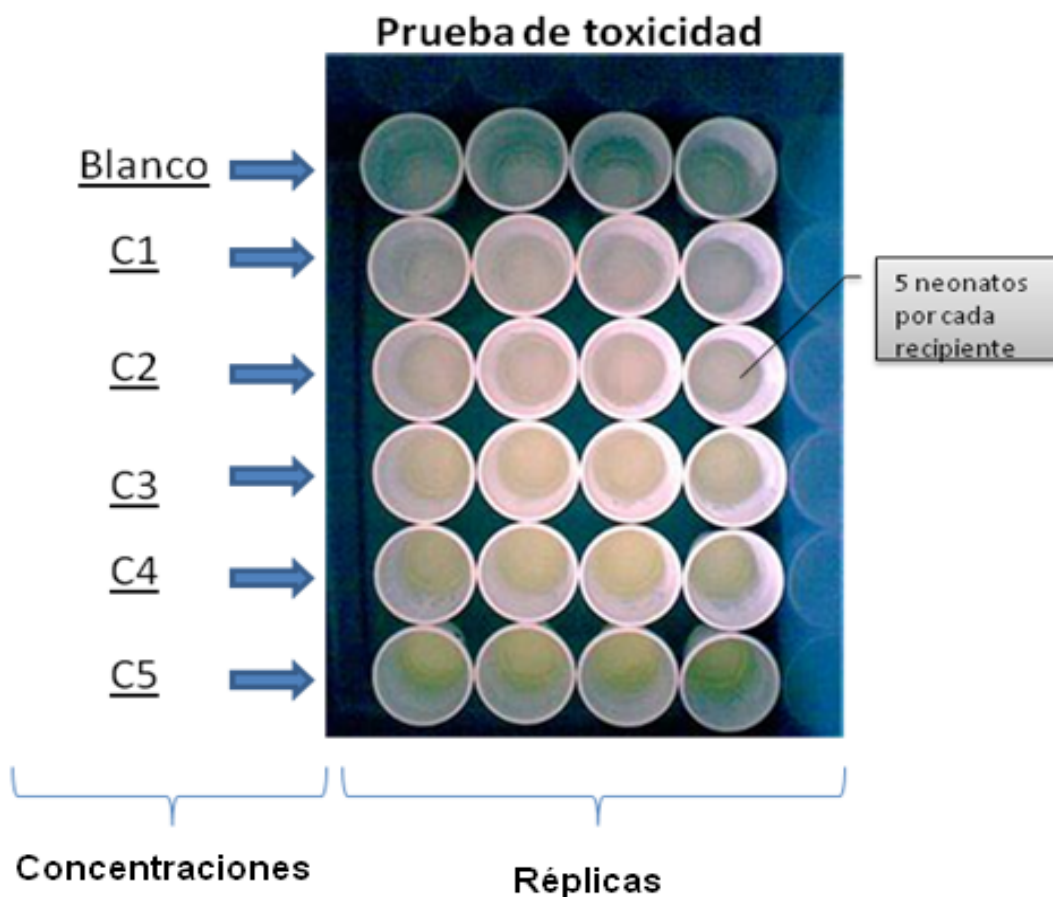
La variable que se manejó fue la obtención de la concentración letal media del Glifosato en un tiempo de 48 horas de exposición por el ciclo de vida del organismo prueba (80-90 días) (CL<sub>50-48</sub>), dado que este resultado depende de los efectos que el Glifosato le ocasiona a los organismo prueba.

##### 3.1.3 Constantes

Durante todos los ensayos o pruebas los organismo utilizados fueron 20 neonatos de *Daphnia pulex* por cada concentración, tiempo de exposición al tóxico (48 horas) y los parámetros fisicoquímicos requeridos durante el mantenimiento de los organismos y durante las pruebas toxicológicas (pH, dureza, temperatura y oxígeno disuelto). Estos parámetros fueron controlados con el fin de cumplir con los protocolos internacionales validados para este tipo de ensayos CETESB. Pruebas de Toxicidad aguda. Protocolos L5.017 y L5.022 de 1992

En este diseño inicialmente se realizaron pruebas preliminares, utilizando rangos de concentraciones entre 50, 100, 200, 300 y 400 ppm del Glifosato. Posteriormente, con los datos de los rangos obtenidos en el ensayo preliminar, se realizaron las pruebas definitivas, utilizando cinco organismos por recipiente, baterías de cinco concentraciones más el control o el blanco y cuatro réplicas por ensayo con un total de 24 copas de ensayo por prueba toxicológica, 120 organismos por montaje y 20 organismos por concentración. Como se muestra a continuación en la Figura 5.

FIGURA 5. Prueba de toxicidad utilizada en el ensayo



Fuente: Autores

Una vez obtenidos los resultados de las pruebas se realizó el análisis Probit para la obtención de la respectiva CL<sub>50-48</sub>, del Glifosato y de la sensibilidad utilizando el protocolo LB06 "Análisis De Regresión y Análisis Probit" donde se dan a conocer los pasos a seguir para la obtención de la misma; la información obtenida a partir del experimento diseñado estadísticamente, fue analizado por el método conocido como Análisis de Varianza (ANOVA).

Esta se trata de una técnica que consiste en aislar y estimar las varianzas separadas que contribuyen a la varianza total de un experimento; es entonces posible, ensayar si ciertos factores producen resultados significativos diferentes de las variables ensayadas. En este caso, se realizó para determinar si existían o no, diferencias significativas en las mortalidades de los diferentes tratamientos, para ello se desarrollo el protocolo LB07 “Análisis de Varianza”, donde se describe el procedimiento para la realización del análisis.

### 3.2 PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUÍDA

Los organismos que son utilizados en las pruebas necesitan estar en optimas condiciones, por esta razón el agua reconstituida fue realizada según metodología CETESB, (Protocolo L5.017 y Escobar Malaver 1992) con el fin simular las condiciones de sales disueltas encontradas en el hábitat natural de este tipo de organismos, por medio de la dureza en un intervalo que debe estar entre 40 – 48 mg/l CaCO<sub>3</sub>, preparada a partir de agua desionizada. Para ello se prepararon soluciones de reactivos con las siguientes concentraciones 10 g/l de NaHCO<sub>3</sub>, 13.5 g/l de CaCl<sub>2</sub>, 10g/l KCl y 20,5 g/l de MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O. Esta se prepara utilizando los siguientes materiales y reactivos, además se debe tener en cuenta la Tabla 9, donde se encuentran volúmenes de las soluciones según la cantidad de agua que se quiera preparar:

#### 3.2.1 Materiales de laboratorio.

- ✓ Acuarios de 20 o 30 litros
- ✓ Aireadores de una (1) sola entrada (Atman)
- ✓ Oxímetro HI 8043 – 422987 (Hanna)
- ✓ pH metro SG 2 – ELK (Mettler Toledo)
- ✓ Agua desionizada
- ✓ Kid de dureza 1.08039.00001 (Aquamark)
- ✓ Probeta de 100 ml
- ✓ Pipeta graduada de 10 ml
- ✓ Pipeta graduada de 1 ml
- ✓ Pipeteador

#### 3.2.2 Reactivos

- ✓ Bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>).
- ✓ Cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>).
- ✓ Cloruro de potasio (KCl).
- ✓ Sulfato de magnesio heptahidratado (MgSO<sub>4</sub> \* 7 H<sub>2</sub>O).

TABLA 9. Preparación de agua reconstituida.

No.	Reactivo	Cantidad a preparar	Mililitros (ml) adicionados	
			A partir de dureza cero (0 mg/l)	A partir de dureza veinte (20 mg/l)
1	NaHCO <sub>3</sub>	20	100	56
	(8 ml)*			
2	CaCl <sub>2</sub>	20	75	42
	(6 ml)*			
3	KCl	20	38	22
	(3 ml)*			
4	MgSO <sub>4</sub>	20	30	16
	(2.5 ml)*			
		Rango pH	7.3 – 7.5	7.8 – 8

\* Cantidad necesaria para aumentar la dureza en 5 mg/l

Fuente: Compañía de Tecnología y Saneamiento Ambiental de Sao Paulo, Brasil. CETESB, Protocolo L5.017/ 1992.

### 3.2.3 Procedimiento

1. Se llenó el acuario con 10 litros de agua desionizada
2. Se Adicionaron al acuario los volúmenes indicados para cada uno de los reactivos NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, KCl, MgSO<sub>4</sub>, presentados en la TABLA 7. Con la ayuda de probeta de 100 ml, pipetas graduadas de 10 y 1 ml. Los cuales son indispensables para preparar el medio de crecimiento de organismos y realizar soluciones problema (CETESB; L5.017/1992)
3. Luego se completó a 20 o a 30 litros el acuario (según la cantidad que se requería en el momento) con agua desionizada para diluir completamente los reactivos, generando un agua reconstituida de dureza 40 a 48 mg/ CaCO<sub>3</sub>.
4. Para aumentar el oxígeno disuelto se aireó el agua reconstituida de manera continua por 24 horas, con el fin de llegar a la saturación.
5. Luego de las 24 horas de aireación fue necesario realizar la lectura siguiendo los protocolos encontrados standard methods de los parámetros de control los cuales se deben encontrar en los siguientes rangos plasmados en la Tabla10

TABLA 10. Parámetros de control de las condiciones del agua reconstituida.

Parámetros de Control	Método según el Standard methods	Rango	Rango Ideal
Dureza	2340 C Titulométrico EDTA	40 – 48 mg/l	45 mg/l
Oxígeno Disuelto	4500-0 G. Electrodo de membrana.	5 – 7 mg/l	6 mg/l
pH	4500-H <sup>+</sup> B Electrométrico.	7.3 – 7.5	7.4
Temperatura	2550 B Laboratorio y de campo.	18 – 22 ° C	20 °C

Fuente: Escobar Malaver Pedro Miguel. Determinación de la toxicidad aguda de los detergentes mediante sistemas estáticos, utilizando *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle

6. Se realizó una prueba de viabilidad antes de usar el agua reconstituida para comprobar que los parámetros fueran óptimos para el desarrollo de los organismos a prueba (*Daphnia pulex*).  
Esta prueba se hizo tomando 5 neonatos en un recipiente con agua reconstituida para luego a las 24 horas hacer un conteo de los organismos; y si el 90 % de ellos estaban vivos el agua era apta para usar o de lo contrario se descartaría.

### 3.3 PREPARACIÓN DEL MEDIO BRISTOL Y CENTRIFUGACIÓN DE ALGAS VERDES *Selenastrum capricornutum*.

Existen diferentes medios para cultivar algas verdes en el laboratorio. El más utilizado es el medio Bristol, con el fin de multiplicar las algas *Selenastrum capricornutum*, en condiciones estandarizadas por medio de la fotosíntesis, este incremento se realizó, con unas soluciones de macro y micro – nutrientes. Como se muestra en la Tabla 11.

Para la preparación del medio fue necesario utilizar los siguientes materiales del laboratorio y los siguientes reactivos:

#### 3.3.1 Materiales de laboratorio

- |  |                                 |
|--|---------------------------------|
| ✓ Probeta de 2 litros (Brand)              | ✓ Pipeta graduada de 10 ml      |
| ✓ Aireador de una (1) sola entrada (atman) | ✓ Pipeta graduada de 1 ml       |
| ✓ Agua desionizada                         | ✓ Pipeta Pasteur de vidrio      |
| ✓ Lámpara luminiscente                     | ✓ Pipeteador                    |
| ✓ Beaker de 2000 y 50 ml                   | ✓ Tubos de ensayo               |
| ✓ Probeta de 10 ml                         | ✓ Centrifugadora DINAC II Brand |

### 3.3.2 Reactivos

**Nota:** Se encuentran en la segunda columna (compuestos) de la Tabla 11.

TABLA 11. Preparación del medio Bristol

No.	COMPUESTO	STOCK	ml de Stock para 1 litro de agua destilada
1	NaNO <sub>3</sub>	25.0 gr./l	10
2	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2.5 gr./l	10
3	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	7.5 gr./l	10
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7.5 gr./l	10
5	NaCl	2.5 gr./l	10
6	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	17.5 gr./l	10
7	KOH	15.5 gr. / 500 ml	1
	EDTA	25.0 gr. / 500 ml	
8	FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	2.49 gr. / 500 ml	1
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.05 ml. / 500 ml	
9	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	5.71 gr. / 500 ml	1
<b>SOLUCION DE ELEMENTOS TRAZA</b>			
10	ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	4.41 gr. / 500 ml	1 ml del stock combinado
11	MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0.72 gr. / 500 ml	
12	MoO <sub>3</sub>	0.355 gr. / 500 ml	
13	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0.785 gr. / 500 ml	
14	Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.245 gr. / 500 ml	
15	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.174 gr. / 500 ml	

Fuente: ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Determinación de la toxicidad agua de los detergentes mediante sistemas estáticos, utilizando *Daphnia pulex*.  
Universidad de la Salle 1994.

### 3.3.3 Procedimiento

En el cuadro 1 se puede observar el procedimiento para la preparación del medio Bristol y la obtención de las algas verdes.

CUADRO 1. Procedimiento preparación del medio Bristol y centrifugación de algas verdes.




<p>FIGURA 5. Reactivos para preparación del medio Bristol.</p> 	<p>1. Reactivos utilizados para la preparación del medio Bristol. (ver en TABLA 11)</p>
<p>FIGURA 6. Beaker</p> 	<p>2. Se tomaron 1500 ml de agua desionizada en una probeta de 2000 ml y se adicionaron las diferentes alícuotas de macro y micro nutrientes para luego completar con agua destilada hasta 2000 ml.</p>
<p>FIGURA 7. Autoclave</p> 	<p>3. Una vez preparada la solución se cubrió con papel kraff para luego ser esterilizado en un autoclave por un periodo de 15 minutos a 121°C y 15 libras de presión. Una vez fue esterilizado y enfriado a temperatura constante lo transferimos a una probeta de 2000ml y adicionamos una alícuota de 2 ml del cultivo de algas verdes <i>Selenastrum capricornutum</i>, de la semana anterior, por medio de una pipeta Pasteur.</p>

FIGURA 8. Montaje Medio Bristol



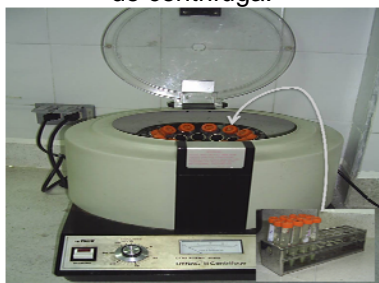
FIGURA 9. Medio Bristol 15 días después.



FIGURA 10. Medio Bristol en Beaker de 2000 ml.



FIGURA 11. Centrifugadora DINAC II Brand, y tubos de centrifuga.



4. Montaje utilizado para preparar el medio Bristol en la probeta, la cual fue tapada con un corcho evitando que se contaminara el cultivo por agentes externos, e inmediatamente se procedió a oxigenar e iluminar con una lámpara luminiscente de manera continua durante 12 a 15 días, proporcionando así las condiciones necesarias para que se multipliquen por medio de la fotosíntesis tornándose en color verde en su totalidad.

5. Es importante tener en cuenta que no se debe pasar del tiempo indicado, ya que las algas comienzan con el proceso de putrefacción, se precipitan y su color se torna marrón.

6. Se trasvasan los 2 litros de medio Bristol de la probeta a una Beaker de 2000 ml, para transferirlos a tubos de centrifuga en volúmenes de 10 ml.

7. En la centrifuga se dejan por un tiempo estimado de 5 minutos y a 3000 rpm, con el fin de concentrar el cultivo de algas verdes.

FIGURA 12. Retiro sobrenadante.



FIGURA 13. Extracción de concentrado de algas



FIGURA 14. Almacenamiento de algas en recipiente y refrigeración.



8. Al terminar de centrifugar, se procede a retirar el exceso de Medio Bristol (sobrenadante) y dejar al final del tubo, únicamente, el alga concentrada; para luego ser retirada con una pipeta Pasteur y almacenada quedando totalmente sellados con papel parafilm, rotulados e identificados para ser guardados en la nevera, en un periodo máximo de 20 días. Como se muestra en las fotografías 8, 9 y 10.

Fuente. Autores

### 3.4 ALIMENTACIÓN DE ORGANISMOS PRUEBA.

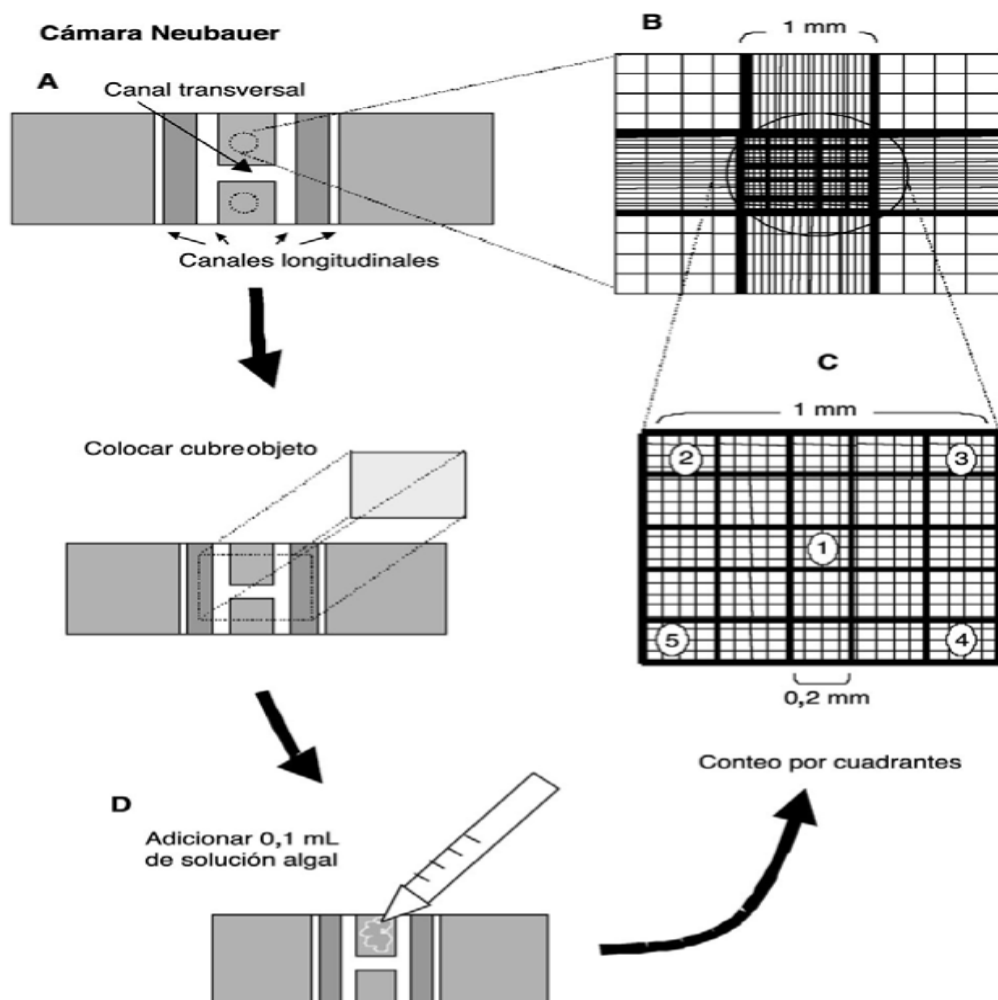
El cultivo de *Daphnia pulex* se alimentó con un concentrado de algas verdes, compuesta por *Selenastrum capricornutum*, las cuales fueron cultivadas en el laboratorio mediante el montaje del medio Bristol descrito anteriormente. Se tuvo en cuenta que cada organismo en su mantenimiento, necesita una dosis de  $3.0 \times 10^6$  células por *Daphnia pulex* /día., según la metodología CETESB/1992.

La cantidad de alimento necesaria fue calculada con ayuda de la cámara de Neubauer, la cual se utiliza para realizar el conteo de células en una cantidad fija de líquido. La profundidad de la cámara es de 0.1 mm. La cuadrícula de recuento muestra 9 cuadros grandes, cada uno de un  $(1) \text{ mm}^2$ ; los cuatro cuadrados grandes de las esquinas señalados con una L están en 16 cuadrados con aristas de 0.25 mm.

La realización de este procedimiento se encuentra establecido el protocolo LB03 “Conteo de Algas con la Cámara Neubauer”, donde se describe los pasos a seguir para el desarrollo del mismo. Este protocolo hace parte del proyecto de investigación de bioensayos y se encuentra en los archivos del laboratorio de Bioensayos de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, para su consulta.

En esta fase se determinó según protocolos del convenio UN-CAR del año 1994 que la frecuencia de alimentación son los días lunes, miércoles y viernes de cada semana.

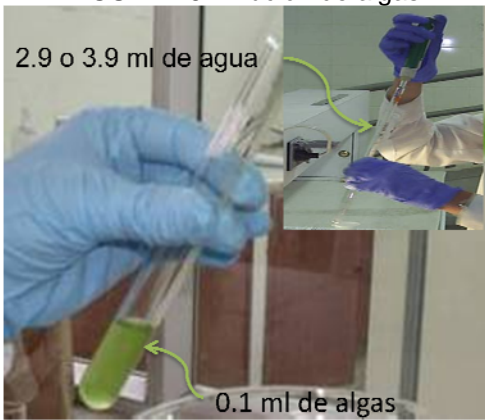


FIGURA 15. Cámara Neubauer



Fuente: DIAZ BÁEZ, María Consuelo; PICA GRANADOS Yolanda; RONCO Alicia. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas; conteo con la cámara de Neubauer. Canadá; IDRC, 2004. 90p.

A continuación en el Cuadro 2 se describen cada uno de los pasos que se siguieron para que los cultivos se mantuvieran.

## CUADRO 2. Conteo de algas

<p>FIGURA 16. Dilución de algas</p> 	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Dilución de las algas concentradas. Esta debe ser 0.1 ml de algas concentradas y 2.9 o 3.9 mL de agua, dependiendo de lo concentradas que estén las algas.</li> </ol>
<p>FIGURA 17. Preparación de la lectura de algas</p> 	<ol style="list-style-type: none"> <li>2. Con una pipeta passteur se ubica una gota en la cámara; la cual se debe encontrar limpia y con el portaobjetos como se muestra en la Figura 17 y posteriormente dejar durante 2 minutos antes de realizar la lectura.</li> </ol>
<p>FIGURA 18. Lectura de algas</p> 	<ol style="list-style-type: none"> <li>3. Ubicada la cámara Neubauer en la platina del microscopio trinocular y enfocamos con el objetivo 10x, para luego localizar el cuadro central de la rejilla. Una vez ubicada la rejilla central cambiamos el lente al objetivo de 40x y realizamos 5 lecturas de forma diagonal, teniendo presente que las células que se encuentren sobre las líneas de la cuadrícula deben ser descartadas; la lectura se realiza en el orden señalado como se observa la Figura 18.</li> </ol>

Fuente. Autores

### 3.5 MANTENIMIENTO DEL CULTIVO *Daphnia pulex*

El mantenimiento del cultivo de los organismos *Daphnia pulex*, se realizó según la metodología CETESB (L5.018)/1992, para conservar un cultivo masivo de 4 edades, manteniendo la posibilidad de usar neonatos del primero al cuarto parto, donde su etapa reproductiva es la más alta. Eliminando cualquier alteración que puede producir bajas en la reproducción de los organismos entre ellas:

- Presencia de efípidos (machos).
- Residuos que pueden entrar en contacto con las *Daphnia pulex* y provocar mortandad de las mismas.
- Falta de oxígeno o alimentación en el cultivo

#### 3.5.1 Materiales

- ✓ 16 Peceras con capacidad para 2 litros
- ✓ Bandeja para el conteo y separación de microorganismo modelo
- ✓ Mallas de filtro (coladores de tela)
- ✓ Pipetas Pasteur plásticas de 3 ml
- ✓ Cristalizadores de 60mm y 70mm
- ✓ Lavadores con agua desionizada
- ✓ Agua reconstituida (dureza 40 – 48 mg/l)
- ✓ Agua de la llave
- ✓ Toallitas absorbentes

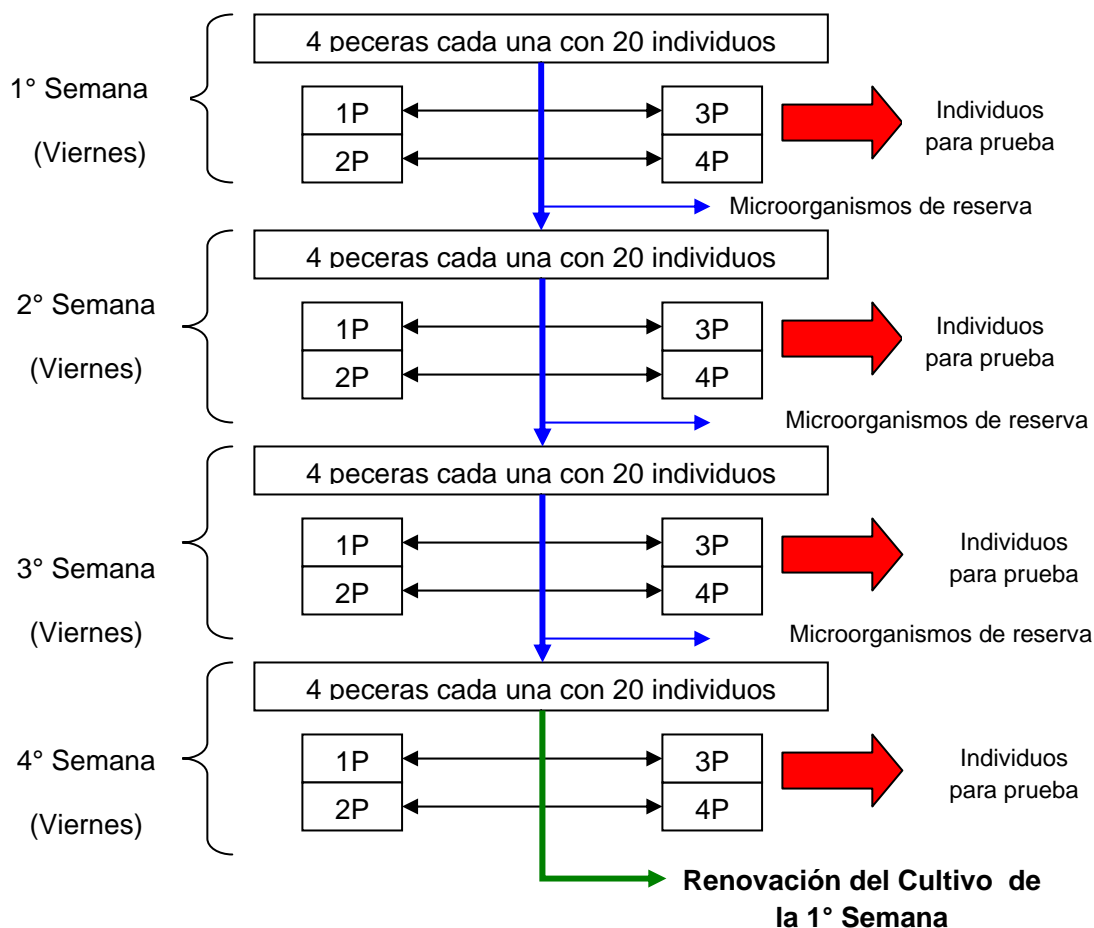
#### 3.5.2 Procedimiento

1. El cultivo de *Daphnia pulex* se mantuvo en peceras de 2 litros con el fin de establecer el escenario óptimo para el crecimiento de los individuos.
2. En cada una de ellas, se mantuvieron 20 individuos, manejando la relación de 1/100 (1 individuo por cada 100ml de agua reconstituida), con una dureza entre 40 y 48 mg/l para su desarrollo. Así mismo, teniendo inspeccionados los parámetros de control establecidos en el protocolo LB01, que se encuentra en laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de la Salle (Laboratorio de bioensayos).
3. Cada pecera fue protegida con tapas de plástico evitando que el polvo, sustancias químicas y vapores afectaran la calidad del agua y la alteración del cultivo.
4. Para evitar que los organismos se acabaran renovábamos el cultivo teniendo en cuenta el ciclo reproductivo de la *Daphnia pulex*, conservándose en las etapas óptimas de reproducción, manteniéndolas en peceras separados por edad desde 0 – 1 semana hasta cuatro semanas; eliminando los organismos mayores a cinco semanas y renovando el cultivo con neonatos que se obtuvieron ese día. (CETESB /L5.018, 1992). Esta renovación se realizaba de manera continua hasta obtener organismos de

quinta generación bajo condiciones estandarizadas de laboratorio teniendo esta descendencia se procede a realizar las pruebas toxicológicas preliminares de sensibilidad.

5. Los organismos se conservaron durante todo el ensayo con una temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , de igual forma se manejo foto - periodo 16 de luz / 8 de oscuridad a y una intensidad lumínica de alrededor de 800 lux.

FIGURA 19. Separación y mantenimiento de organismos prueba.



Fuente: Bernal y Rojas, 2006

### 3.5.3 Limpieza

En el momento de limpiar el área de trabajo, bajo ninguna circunstancia se utilizó detergentes, desinfectantes o bactericidas. Las peceras se limpiaban diariamente con agua con el fin de eliminar los caparazones de los organismos y los restos de comida que se encontraran en el fondo.

Los neonatos y *Daphnas* madres se separaban en recipientes plásticos respectivamente y se realizó un registro del conteo diario de todos los organismos; Seguidamente el agua era pasada por un filtro (colador de tela) tratando de mantener la misma cantidad de agua (2 litros). El agua se renueva cada ocho días cambiándole el 50 % de la que está en cada pecera.

### 3.6 RECOLECCION Y MANIPULACION DE ORGANISMOS PRUEBA *Daphnia pulex*

Para las pruebas se utilizaron neonatos 6 a 24 horas de nacidos empleando una pipeta Pasteur de plástico de 3 mililitros, la cual, debe tener una abertura suficiente para no ocasionarle daños a ningún organismo, para colocarlos dentro de un recipiente plástico con agua reconstituida de la misma pecera. (Estos mismos organismos son utilizados para la renovación de cultivos, pruebas de toxicidad y pruebas de viabilidad).

**NOTA:** En la tabla que se encuentra a continuación se observa un breve resumen para ser mas practico el mantenimiento de los cultivos.

TABLA 12. Resumen de las condiciones recomendadas para el mantenimiento de cultivos de *Daphnia pulex*

PARÁMETRO	CONDICIÓN IDEAL
Temperatura	20± 2 °C
Calidad de luz	Fluorescente, blanco-frío
Intensidad luminosa	600-1000 lux (luz blanca fría)
Fotoperiodo	16 horas luz/8 oscuridad
Densidad poblacional	10 individuos/L
Alimentación	Cultivos puros de <i>Selenastrum capricornutum</i> u otras algas verdes unicelulares
Recipientes de mantenimiento	Los cultivos se mantienen en recipientes de 2 L de vidrio transparentes y deben permanecer tapados
Limpieza	Diariamente se deben retirar las mudas y los restos que se encuentren en el fondo de los recipientes. Cada lunes se cambia el 50% del agua de las peceras. Estas deben lavarse con abundante agua, asegurándose de retirar bien del vidrio las algas adheridas a éste, enjuagar varias veces con agua desionizada y purgar con agua reconstituida. No se deben emplear jabón ni otros detergentes
Recolección de neonatos	Diariamente se retiran los neonatos con una micropipeta de plástico, con una abertura lo suficientemente ancha como para no ocasionar daños a los neonatos ni a las madres.
OD	Mayor a 6 mg/L
pH	7.3 – 7.5
Dureza	40 – 48 mg/L CaCO <sub>3</sub>

Fuente: Modificado de CASTILLO, Gabriela. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. 2001. p. 55

### 3.7 PRUEBAS DE TOXICIDAD.

Para el desarrollo de las pruebas de toxicidad se utilizan neonatos de 6 a 24 horas de nacidas de *Daphnia pulex*, a continuación se describen las condiciones en las que se realizan las pruebas, como es la preparación de las soluciones, montajes de las pruebas de toxicidad y realización de las pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio y las pruebas preliminares y definitivas con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>.

TABLA 13. Condiciones al momento de realizarlas pruebas.

CONDICION	JUSTIFICACIÓN
TEMPERATURA	Se maneja la misma con la que se mantenían los cultivos (20 +/- 2 °C) para evitar que los organismos murieran por cambios bruscos.
ILUMINACION	Las pruebas son realizadas sin presencia de luminosidad con el fin de que los organismos no se sintieran atraídos por esta, y así tuviesen contacto con toda la solución o contaminante.
ALIMENTO	No se agrega alimento, ya que los organismos cuentan con nutrientes que les permite sobrevivir dos días aproximadamente.
EDAD DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA	Se utilizan neonatos entre 6 y 24 horas de nacidos ya que estos resultan más sensibles a los tóxicos que van a ser expuestos.(dicromato de potasio y Glifosato ROUNDUP® 747 <sub>SG</sub> ).
DURACION DEL ENSAYO	El ensayo se realiza por un tiempo estimado de 48 horas, ya que se tomó una decima parte del ciclo de vida del organismo.
BLANCO DE CONTROL	En cada una de las baterías o pruebas se debe tener un blanco como control, para poder comprobar que los organismos a prueba se están muriendo por el tóxico y no por otras alteraciones del ambiente.

Fuente. Autores

#### 3.7.1 Materiales y reactivos.

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Vidrio reloj
- ✓ Espátula
- ✓ Balón aforado de 1000 ml
- ✓ Balón aforado de 500 ml
- ✓ Balón aforado de 250 ml
- ✓ Pipeta de 25,10 y 1 ml
- ✓ Pipeteador
- ✓ 5 frascos de vidrio con tapa
- ✓ Copas de plástico de 10 ml

- ✓ Funda de tela (negra)
- ✓ Cubeta plástica
- ✓ Agua destilada
- ✓ Agua reconstituida
- ✓ K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>
- ✓ Glifosato

### 3.7.2 Preparación de soluciones

Las soluciones para todas las pruebas de toxicidad fueron preparadas con agua reconstituida, cada una con un volumen de 500 ml, las cuales se mantuvieron preservadas en refrigerador por un tiempo no mayor a seis (6) meses.

Antes de la realización de los ensayos de toxicidad, las soluciones preparadas eran aclimatadas durante un período de 3 horas, para evitar la mortandad de los organismos prueba que se hace debido a un cambio de temperatura.

### 3.7.3 Montaje de las pruebas de toxicidad (bioensayos)

Como material para la batería de ensayo, se utilizan 24 copas con capacidad para 10 ml, distribuidos en cinco (5) concentraciones de las respectivas soluciones (pruebas de sensibilidad (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), para el Glifosato se tiene en cuenta un control y cuatro réplicas por cada concentración. Una vez lista la batería de ensayos se procede a adicionar 10 mililitros de las concentraciones a evaluar en cada copa y sus respectivos controles.




La prueba se inicia en el momento de adicionar un total de 20 organismos por concentración distribuidos en un número de cinco (5) neonatos en cada una de las copas de ensayo de las cuatro replicas, utilizándose un total de 120 organismos por batería de ensayo. La batería de ensayo se debe cubrir totalmente con una funda negra, y se guarda en el área de mantenimiento de cultivos a una temperatura de  $20 \pm 2$  °C por un periodo de 48 horas. Al término de las 48 horas se revisa, con ayuda de una lámpara, la lectura de los organismos muertos en cada copa, reportando el número de ellos en el registro LB 001 “Registro de resultados por muestra analizada”. Protocolo LB 005 Pruebas de Toxicidad. Este protocolo hace parte del proyecto de investigación de los profesores Pedro Miguel Escobar Malaver, Yanneth Parra y Rubén Darío Londoño y se encuentra en los archivos del laboratorio de Bioensayos de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, para su consulta.



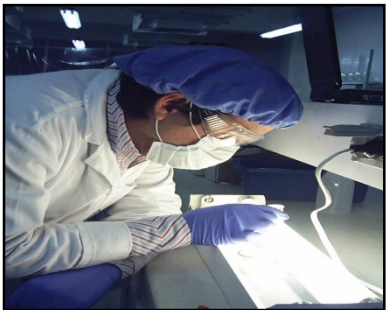
### 3.7.4 Pruebas de sensibilidad con el tóxico de referencia Dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>).

Las pruebas de sensibilidad sirven como control positivo y tiene como objetivo establecer que tan sensibles están los organismos *Daphnia pulex* frente a un

tóxico de referencia, en este caso el Dicromato de potasio. Ver paso a paso en el Cuadro 3.

### CUADRO 3. Desarrollo de las pruebas de sensibilidad.

<p>FIGURA 20. Selección de neonatos</p> 	<p>1. Se seleccionan neonatos de 6 a 24 horas de nacidos que serán utilizados en las pruebas.</p>
<p>FIGURA 21. Montaje de la batería de ensayo</p>  <p>FIGURA 22. Adición de soluciones de dicromato de potasio.</p> 	<p>2. Posteriormente se hace el montaje de las baterías con sus respectivas soluciones en concentraciones de (0.5, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 ppm) y un blanco de referencia; adicionando en cada una de las copas una cantidad de 10 ml de la solución como se muestra en las figuras 21 y 22.</p>

<p>FIGURA 23. Deposito de neonatos</p> 	<p>3. Se depositan 5 neonatos por cada una de las copas, utilizando 20 por cada concentración, sumando un total de 120 por cada batería de prueba.</p> <p>En este paso se tiene en cuenta que al momento de depositar los neonatos en las copas estos deben ir en una sola gota de agua para que la concentración de la solución no se altere.</p>
<p>FIGURA 24. Almacenamiento de pruebas.</p> 	<p>4. Una vez listas las baterías, se sitúan en una cubeta plástica, tapadas con papel kraff y posteriormente se cubren con una funda de tela color negro para evitar que la luz intervenga en la prueba y altera los resultados.</p> <p>Cabe resaltar que las pruebas deben ser debidamente marcadas con fecha y hora de su realización.</p>
<p>FIGURA 25. Lectura de pruebas.</p> 	<p>5. Luego de las 48 horas las pruebas son leídas y registradas en los formatos propuestos en el protocolo LB05.</p>

Fuente. Autores

Las concentraciones seleccionadas para el desarrollo de las prueba han venido siendo utilizadas por los anteriores grupos de investigación del laboratorio de bioensayos de la universidad de La Salle; esto nos hace deducir que debido a la

larga experiencia y trayectoria del grupo, son datos confiables a la hora empezar una nueva investigación.

En la figura 26, se resume el procedimiento para llevar a cabo el desarrollo de las pruebas que se harán en dos etapas: pruebas preliminares, en las que se emplea un el rango obtenido por el grupo anterior, con el fin de establecer el 0 y 100% de mortalidad del tóxico de referencia dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) y las pruebas definitivas utilizando los rangos seleccionados de acuerdo con los resultados de los ensayos preliminares.

FIGURA 26. Determinación de la sensibilidad



Fuente: Autores

Estas pruebas tienen el propósito de garantizar no solo la confiabilidad de los datos obtenidos de las pruebas con otros tóxicos, en relación con la capacidad de respuesta de los organismos de prueba, sino el estado fisiológico del cultivo.

Pruebas de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>

#### 3.7.5.1 Pruebas preliminares de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>

Para el desarrollo de las pruebas y para encontrar el rango ideal de la concentración letal del glifosato, se realizarán ensayos preliminares teniendo en

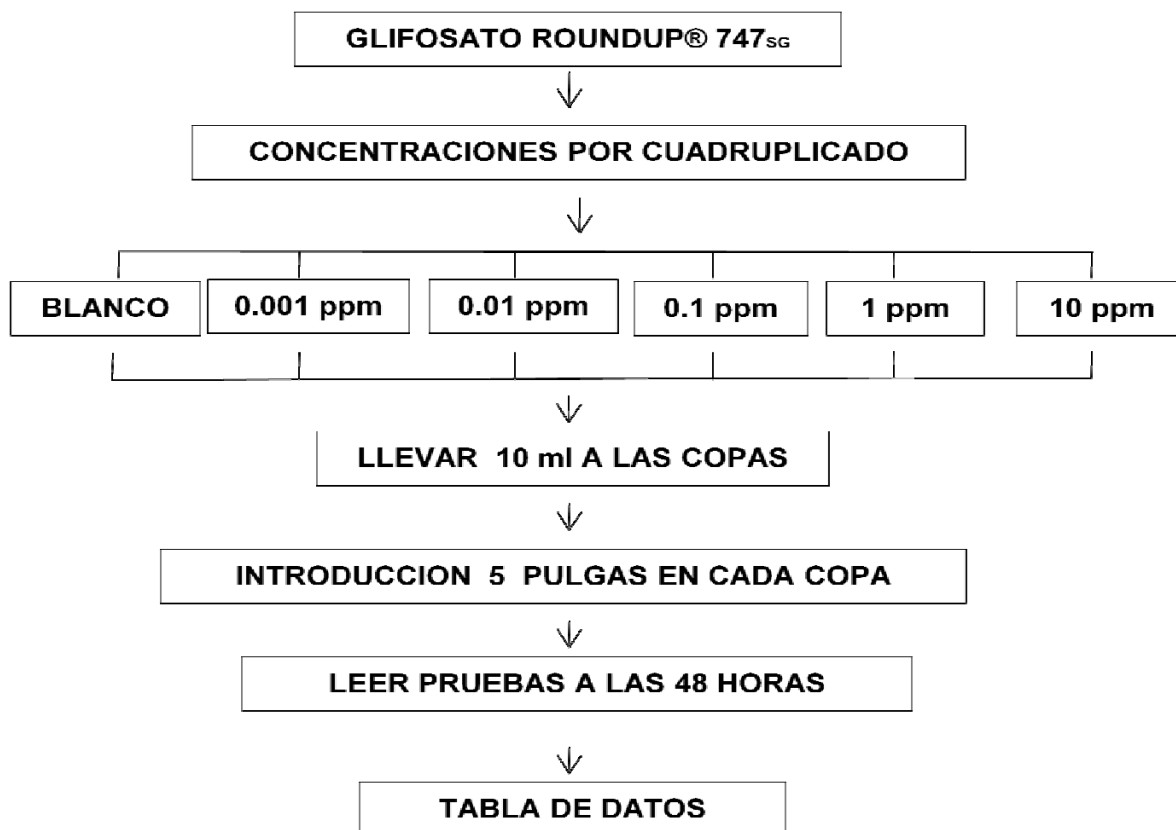
cuenta estudios que anteriormente se han desarrollado en la Universidad de La Salle, y en el laboratorio de bioensayos de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional De Colombia.

Se prepararan concentraciones de (10, 1, 0.1, 0.01 y 0.001ppm) con su respectivo blanco o control, rangos establecidos según CETESB. Pruebas de Toxicidad aguda. Protocolos L5.017 y L5.022 1992.

Una vez hechas estas pruebas y obtenidos los resultados se procede a descartar datos en los que no se observe ningún cambio y establecer el rango para la realización de nuevas pruebas con concentraciones convenientes. Este procedimiento se hará hasta observar que en la concentración más baja sobrevivan el 100% de los organismos y en la más Alta mueran el 0 %.

En la figura 27, se resume el procedimiento para llevar acabo el desarrollo de las pruebas y determinar la concentración letal media del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>.

FIGURA 27. Determinación de concentración letal del Glifosato



Fuente: Autores

### 3.7.5.2 Pruebas definitivas de toxicidad con Glifosato ROUNDUP® 747SG

Se realizarán 10 pruebas definitivas con el Glifosato ROUNDUP® 747SG con el fin de garantizar los resultados. De igual manera se siguen los protocolos internacionales, que exigen un mínimo de 10 pruebas con la sustancia pura. De las 10 pruebas de toxicidad que se realizarán, se obtendrá la  $CL_{48}^{50}$  con sus límites de confianza inferior y superior, utilizando método estadístico probit.

El procedimiento para llevar a cabo el desarrollo de las pruebas está plasmado en el Cuadro 4.

CUADRO 4. Procedimiento para el desarrollo de las pruebas de toxicidad con Glifosato **ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>**




<p>FIGURA 28. Selección de neonatos</p> 	<p>2 Se seleccionan neonatos de 6 a 24 horas de nacidos que serán utilizados en las pruebas de toxicidad.</p>
<p>FIGURA 29. Montaje de la batería de ensayo</p>  <p>FIGURA 30. Adición de soluciones de Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> y de neonatos.</p> 	<p>3 Posteriormente se hace el montaje de las baterías con sus respectivas soluciones en concentraciones de (50, 100, 150, 200, y 250 ppm) y un blanco de referencia; adicionando en cada una de las copas una cantidad de 10 ml de la solución como se muestra en la figura 29.</p> <p>Se Depositán 5 neonatos en cada una de las copas, utilizando 20 por cada concentración, sumando un total de 120 por cada batería de prueba.</p> <p>En este paso se tiene en cuenta que al de depositar los neonatos en las copas estos deben ir en una sola gota de agua para que la concentración de la solución no se altere. Como se observa en la figura 30.</p>

FIGURA 31. Almacenamiento de pruebas.



FIGURA 32. Identificación del sitio de las pruebas.



- 4 Una vez listas las baterías, son situadas en una cubeta plástica, tapadas con papel kraft y posteriormente se cubren con una funda de tela color negro para evitar que la luz intervenga en la prueba y altera los resultados.

Cabe resaltar que las pruebas deben ser debidamente marcadas con fecha y hora de su realización.

Estas pruebas fueron muy bien aisladas del laboratorio ya que el Glifosato puede afectar a los demás cultivos.

FIGURA 31. Lectura de pruebas



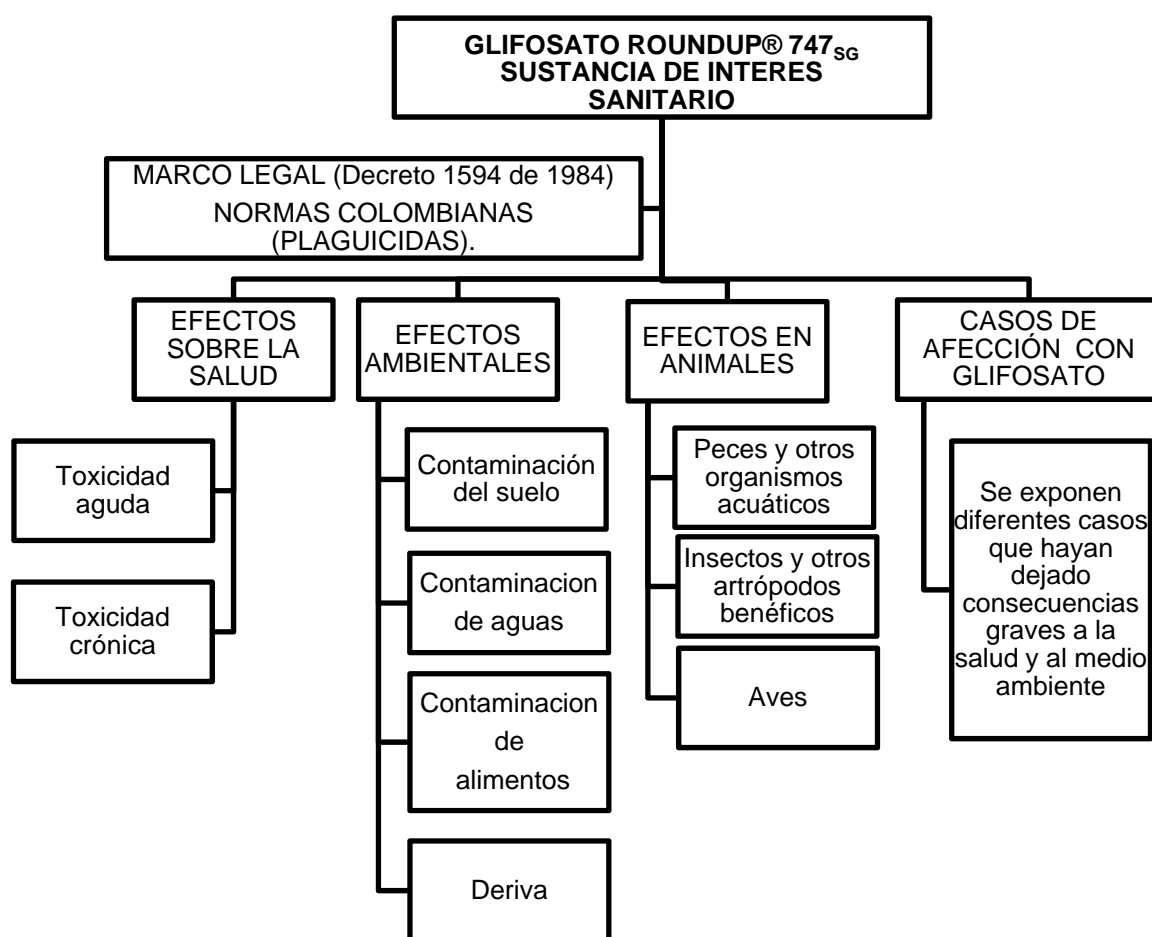
- 5 Luego de las 48 horas las pruebas son leídas y registradas en los formatos propuestos en el protocolo LB05

Fuente. Autores

### 3.8 GLIFOSATO ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> ; SUSTANCIA DE INTERÉS SANITARIO

Con el fin de lograr el cumplimiento del tercer objetivo planteado en este trabajo de investigación, en la figura 34. Se desglosan una serie de elementos de gran importancia que hace pensar que el glifosato como compuesto activo (Acido glifosato), debe ser incluido en el Artículo 20 del Decreto 1594 de 1984 expedido por el Ministerio de Salud o en una nueva norma de vertimientos.

FIGURA 34. Elementos necesarios para incluir el glifosato como sustancia de interés sanitario.



Fuente. Autores

### 3.9 RESULTADOS FISICOQUÍMICOS FINALES

Los análisis fisicoquímicos de las pruebas finales tienen la misma metodología que las pruebas preliminares. Se realiza la lectura de los microorganismos muertos después de las 48 horas siguientes a la siembra, adicionalmente se procede a medir el oxígeno disuelto, la dureza y el pH, de cualquiera de las copas de la batería, para corroborar que el efecto tóxico fue producido por un agente químico, en este caso el Glifosato, y no por las constantes que se manejan en la prueba toxicológica. De igual manera las pruebas definitivas son consideradas válidas según metodología CETESB/1992, dentro de las siguientes condiciones:

- La mortalidad en los controles no debe ser mayor que el 10% y preferiblemente no más que el 5%.
- Si la mortalidad en el control sobrepasa el 10%, esta prueba se considera no representativa, se descarta y se requiere la repetición de la misma.
- La concentración de oxígeno disuelto en las soluciones test durante el transcurso del ensayo debe ser mayor a 4mg/L.

### 3.10 OBTENCIÓN DE RESULTADOS

La estimación de este valor sigue un modelo matemático que asume relación continua entre dosis y respuesta. El valor se calcula con una confiabilidad del 95%. Este valor se obtiene por medio del método Probit, obteniéndose la  $CL_{48}^{50}$  con sus respectivos límites de confianza para ello se utilizó el protocolo “LB 06 Análisis de regresión y análisis Probit “. Después de tener este resultado se procede a realizar el análisis de varianza según el protocolo LB07 “Análisis de varianza” para comprobar que a diferentes concentraciones de la sustancia produce un diferente efecto en todos los organismos.<sup>61</sup>

---

<sup>61</sup> ESCOBAR. Op cit., p. 16

**FIGURA 35: Metodología para la determinación de la CL<sub>50-48</sub>  
del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>**

Fuente: Autores

#### 4. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

De acuerdo al objetivo general de la investigación que consistió en determinar la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del Glifosato ROUNDUP® 747 SG, por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Se analizó cada una de las fases propuestas en la metodología explicando desde el mantenimiento del cultivo hasta la obtención de los resultados finales.

##### 4.1 PREPARACIÓN DEL AGUA RECONSTITUÍDA

Como se menciona anteriormente, los organismos que fueron utilizados en las pruebas tenían la necesidad de estar en perfectas condiciones para un óptimo crecimiento y reproducción; por esta razón el agua se preparó en un acuario con una capacidad de 20 litros; la cual era aireada constantemente por dos aireadores para garantizar que el oxígeno disuelto fuera mayor de 6 mg/l, durante las 24 horas de aireación se hacía necesario tapar el acuario con plástico y sellados con cinta para evitar cualquier tipo de contaminación del agua como se observa en la siguiente figura.


FIGURA 36. Acuario preparación agua reconstituida.



Fuente: Autores

Durante el tiempo de la investigación se llevó a cabo el registro que se puede observar en la TABLA 14. Obteniendo un promedio de datos de dureza entre 40 – 48 mg/L CaCO<sub>3</sub>, Oxígeno disuelto entre 5 – 7 mg/l, pH entre 7.3 – 7.5 y temperatura entre 18 – 22 ° C; condiciones ideales para la supervivencia de la *Daphnia pulex*.

TABLA 14. Registro de datos parámetros de control agua reconstituida

 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB002
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS REGISTRO DE DATOS PARAMETROS DE CONTROL AGUA RECONSTITUIDA <i>Daphnia pulex</i> .	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Fecha de preparación:</b> 22 - junio - 2008</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Volumen de preparación:</b> 20 litros.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Dureza:</b> 48 mg/L CaCO<sub>3</sub></li> <li>• <b>OD inicial :</b> 5 ml/l</li> <li>• <b>OD 24 horas:</b> 6 ml/l</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>pH:</b> 7.15</li> <li>• <b>Temperatura:</b> 19 °C</li> </ul>
<b>Observaciones:</b>	
<b>Elaboro: Javier Quintero – Gisela Piñeros.</b>	

Fuente: Autores

#### 4.2 SIEMBRA DE LOS ORGANISMOS, *Daphnia pulex* Y MANTENIMIENTO DE LOS CULTIVOS.

Una vez preparada el agua reconstituida y el alimento, se realizo la siembra de los cultivos, utilizando neonatos del grupo investigador de Nicolás Casallas y Kelly Ibáñez.

Para iniciar con los cultivo se tomaron cuatro peceras, en cada una de ellas se adiciono 2 litros de agua reconstituida, con las condiciones de dureza, pH, Oxígeno disuelto y temperatura adecuadas consignadas en la Tabla 14.

Para el óptimo mantenimiento de los cultivos, se adapto un stand donde se ubico los recipientes que contenían los organismos, en cada uno de los espacio se instalo una lámpara donde alumbraba a las peceras debidamente tapadas y rotuladas con la fecha en que fue creado el cultivo; el stand fue recubierto por un plástico para evitando polvo y gases externos, que puede afectar la calidad del agua y la alteración del cultivo. Como se observa en las figuras 37, 38 y 39.

FIGURA 37. Siembra de neonatos



Fuente: Autores

FIGURA 38. Área de cultivos



FIGURA 39. Mantenimiento de cultivos



Fuente. Autores

### 4.3 ALIMENTACIÓN DE LOS ORGANISMOS DE PRUEBA

Para la alimentación se hizo lectura de las algas en la cámara de Neubauer para determinar la cantidad de alimento que se debe suministrar a las peceras que contienen los organismos. Este procedimiento se realizó cada vez que se obtenía un nuevo concentrado de algas.

A continuación se explica paso a paso como se realizó uno de los conteos de algas y el cálculo de la cantidad por día para cada organismo. El cálculo que se ilustra fue hecho para el 10 de junio de 2008.

En la Figura 40 se pueden observar las 5 lecturas de forma diagonal que se realizan en la cámara Neubauer.

FIGURA 40. Lectura cantidad de algas cámara de Neubauer.  
 (10 de junio de 2008)

34			1					33			4
	38								39		
		41								36	
			40								40
				38			3				
					40						
						30	31				
							33				
34			2					45			5
	47								49		
		48								46	
			51								41

Fuente. Autores

Seguidamente se hizo el cálculo de la cantidad de células encontradas en la cámara de la siguiente forma.

$$\text{Lectura1} = 34 + 38 + 41 + 40 = 153 \times 4 = 612$$

$$\text{Lectura2} = 34 + 47 + 48 + 51 = 180 \times 4 = 720$$

$$\text{Lectura3} = 38 + 40 + 30 + 31 + 33 = 172 \times 5 = 860$$

$$\text{Lectura4} = 33 + 39 + 35 + 40 = 147 \times 4 = 588$$

$$\text{Lectura5} = 45 + 49 + 45 + 41 = 180 \times 4 = 720$$

$$\sum \text{Lecturas} = 3500$$

$$\bar{X} = 700 \text{células}$$

Con el cálculo que se realizó anteriormente quiere decir que ( $\bar{X}$ ) es la cantidad de células que existen en un 1 ml de algas, partiendo que la cámara tiene una capacidad de  $1 \times 10^{-4}$  ml, entonces:

$$\frac{\bar{X} \text{Células}}{1 \times 10^{-4} \text{ mL}} = \frac{\text{No.células}}{1 \text{ mL}}$$

$$\text{No.células} = \frac{(1 \text{ mL}) * (700)}{1 \times 10^{-4} \text{ mL}}$$

$$\text{No.células} = 7.00 \times 10^6$$

Al obtener este valor se multiplica por el factor de dilución, dando así el valor real de células que existen en 1 ml. Para este caso es 20 (0.1 ml de algas \* 1.9 ml de agua)

$$\text{No.células} = (7.00 \times 10^6)(20)$$

$$\text{No.células} = 140.0 \times 10^6 \frac{\text{celulas}}{1 \text{ ml}}$$

Posteriormente se calculó el volumen de alimento que necesita cada pecera que contiene 20 *Daphnia pulex* con la siguiente fórmula:

$$V = \frac{(A \times B)}{C}$$

Donde:

V = Volumen del concentrado de algas

A = Número de *Daphnia pulex* por acuario.

B = Dosis óptima recomendada ( $3.0 \times 10^6$  células por *Daphnia pulex* /día). (Según metodología CETESB / L5.018, 1992)

C = Concentración (número de células/mL) de la suspensión de algas descritas y halladas anteriormente.

$$V = \frac{(A \times B)}{C}$$

$$V = \frac{20org \cdot (3 \times 10^6 \text{ cél / org})}{140.0 \times 10^6 \text{ cel / mL}} = 0.428 \frac{\text{ml}}{\text{dia}}$$

De esta forma se obtuvo el volumen de concentrado de algas que se debe administrar a una pecera con 20 organismos, prueba el cual en este caso sería 0.428 ml de algas por cada día. Este procedimiento se debía hacer cada vez que se preparábamos alimento.

#### 4.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD

El enfoque principal de esta investigación es determinar y analizar por medio de pruebas toxicológicas la concentración letal del Glifosato ROUNDUP® 747<sup>SG</sup> sobre el ecosistema acuático, más específicamente en los organismos *Daphnia pulex*. Durante el transcurso de la investigación se obtuvieron los resultados que se muestran a continuación en los siguientes puntos.

##### 4.4.1 Pruebas sensibilidad con el tóxico de referencia Dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>).

Durante Las pruebas de sensibilidad se pudo observar que los organismos sirvieron como control positivo, para saber que tan sensibles se encuentran éstos y poder realizar las pruebas con el tóxico final. Para el desarrollo de las pruebas preparamos cinco concentraciones (0.5, 0.3, 0.2, 0.1 y 0.05 ppm), las cuales venían siendo utilizadas por los anteriores grupos investigadores, y un blanco (agua reconstituida), cada una de ellas por cuadruplicado; como se menciona en la metodología del proyecto.

##### 4.4.2 Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) con el tóxico de referencia, Dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) y elaboración de la carta de control.

La concentración letal media del Dicromato de potasio se determinó con las concentraciones definitivas, en las cuales se tuvo un porcentaje de mortalidad de 0% al 100%. Está se calculó con el programa estadístico probit, en el cual se suministraron los datos de los ensayos, determinándola con sus respectivos límites de confianza al 95%; con ellos se construyó la carta de control con el valor promedio, la desviación estándar, que se observa en la Tabla 15, donde se presentan los resultados obtenidos de la evaluación, durante los meses de Junio y julio de 2008 de los cultivos de *Daphnia pulex*.

En la siguiente tabla también se muestra la CL<sub>50-48</sub> y sus límites de confianza inferior y superior estimados para cada uno de los once (11) test de toxicidad

aguda con *Daphnia pulex* realizados con dicromato de potasio como tóxico de referencia.

TABLA 15. Carta de control con Dicromato de potasio en *Daphnia pulex* y varianza de cada una de las pruebas.

No. Prueba	Fecha	CL <sub>50-48</sub> (mg/l)	95% Limite de confiabilidad		Varianza	
			Límite Inferior (mg/l)	Límite superior (mg/l)	F calculado	F <sub>0,05</sub> Teórico
1	24/ 06/ 08	0.3033	0.2660	0.3456	59.27	2.77
2	24/ 06/ 08	0.3033	0.2660	0.3456	175.28	
3	24/ 06/ 08	0.2948	0.2591	0.3340	52.25	
4	24/ 06/ 08	0.2998	0.2663	0.3365	77.96	
5	24/ 06/ 08	0.2965	0.2572	0.3434	69.6	
6	25/ 06/ 08	0.3120	0.2726	0.3585	50.4	
7	25/ 06/ 08	0.3277	0.2889	0.3723	139.2	
8	01/07/ 08	0.2810	0.2456	0.3201	97	
9	01/07/ 08	0.2948	0.2591	0.3340	191.6	
10	01/07/ 08	0.2675	0.2327	0.3059	198	
11	08/07/ 08	0.2738	0.2398	0.3105	108.92	
	Promedio	<b>0.2958</b>	<b>0,2559</b>	<b>0.3369</b>	<b>110.86</b>	2.77

Fuente: Autores

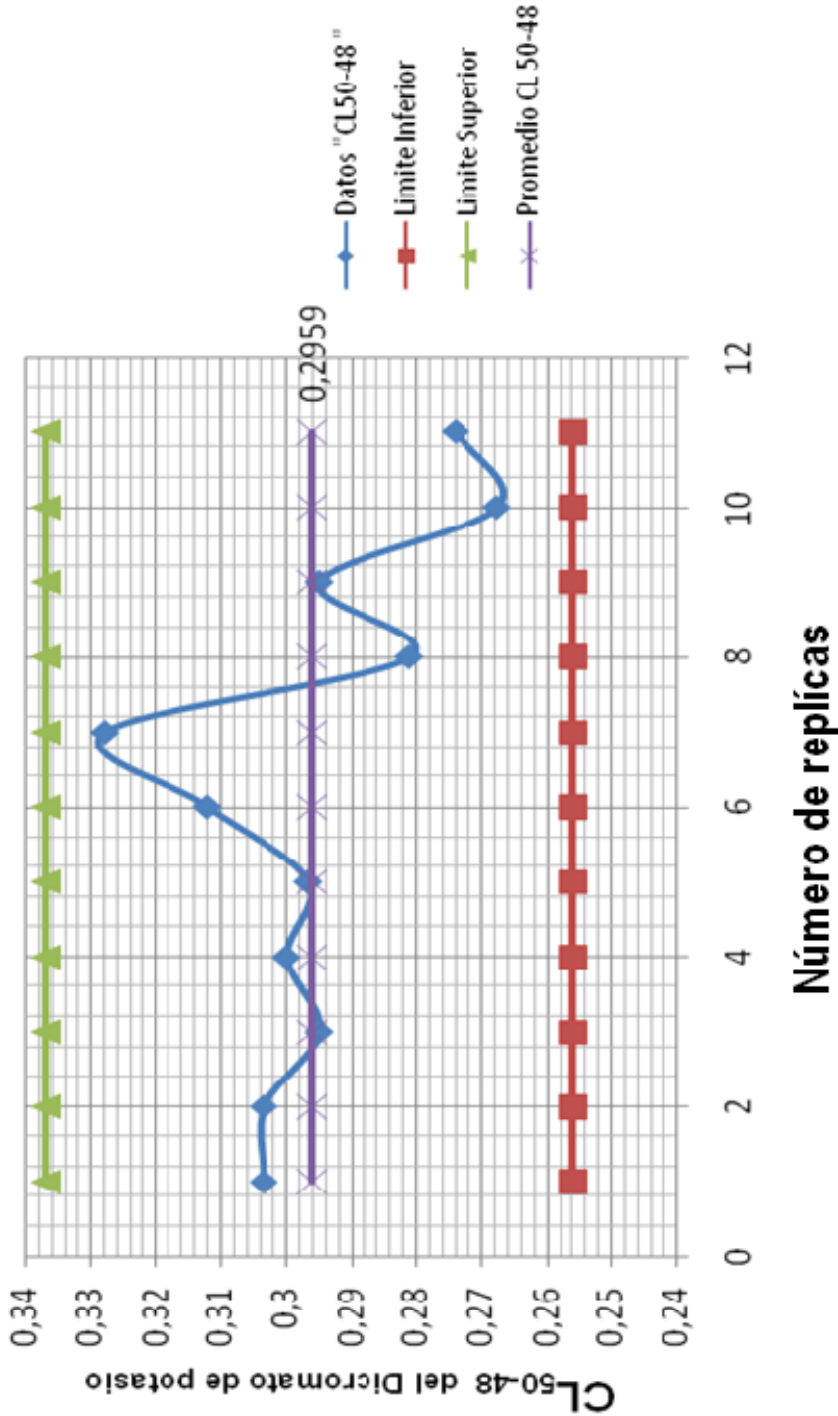
La carta de control consistió en la representación gráfica de los siguientes datos:

- Disposición en forma consecutiva, sobre el eje x, de la serie sucesiva de los test de toxicidad aguda considerados en la calibración.
- Disposición de los valores de CL<sub>50-48</sub> e intervalos de confianza correspondientes a cada uno de estos bioensayos.
- Límites de confianza superior e inferior al 95 % para el conjunto de valores de CL<sub>50-48</sub> considerados. Los límites de confianza superior e inferior al 95 % son representados por la concentración (CL<sub>50-48</sub>) que iguala dos veces la desviación estándar sobre o bajo la media ( $X \pm 2$ ), respectivamente.

Al ser graficados estos límites de confianza reciben, en forma respectiva, el nombre de líneas de vigilancia superior e inferior.

Los límites de vigilancia superior e inferior al 95 % definen la exactitud intralaboratorio y el rango de vigilancia dentro del cual se encuentra el valor de toxicidad verdadera para el tóxico de referencia.

GRAFICA 1. Sensibilidad del cultivo al tóxico de referencia



Fuente. Autores

Estas pruebas se realizaron con el fin de estandarizar las pruebas de toxicidad, estableciendo la sensibilidad de la especie y su respuesta frente a un tóxico de referencia según las repeticiones del experimento.

Con estas pruebas se certificó que la respuesta de la población se debe al tóxico y no a variaciones del cultivo o a fallas operacionales en la aplicación del método, determinando el rango de variabilidad y sensibilidad frente al tiempo de exposición.

La concentración letal media  $CL_{50-48}$  promedio obtenida en las pruebas de sensibilidad que se realizaron es 0.2958 mg/l y sus límites de confianza son 0,2559 y 0,3369 mg/l expresados como Dicromato de Potasio.

Existen datos de pruebas de sensibilidad con Dicromato de potasio que corroboran que los datos obtenidos en las pruebas están dentro de los rangos anteriormente encontrados, estos se pueden observar en la Tabla 16 que se encuentra a continuación.

TABLA 16 Comparación de resultados de Sensibilidad con Dicromato de potasio ( $CL_{48}^{50}$ ).

Año	$CI^{50}$ mg/L	Límite superior mg/L	Límite inferior mg/L	Referencia
1997	0.1175	0.1969	0.0381	ESCOBAR, 1997
2007	0.394	0.563	0.221	BERNAL Y ROJAS, 2007
2007	0.097	0.121	0.068	OROZCO Y TORO, 2007
2008	<b>0.2958</b>	<b>0.2559</b>	<b>0.3369</b>	<b>PIÑEROS Y QUINTERO, 2008</b>

Fuente: Autores.

Como se observo en la anterior tabla los datos obtenidos en las pruebas de laboratorio ratifican que las *Daphnias pulex* son organismos altamente sensibles a las sustancias contaminantes como lo es el Dicromato de potasio, encontrándose el valor en medio de los rangos obtenidos por otros investigadores.

#### 4.4.3 Pruebas preliminares de toxicidad con Glifosato *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>*

Para la realización de las pruebas preliminares se prepararon concentraciones de (10, 1, 0.1, 0.01 y 0.001ppm) con su respectivo blanco o control, rangos establecidos según CETESB. Pruebas de Toxicidad aguda. Protocolos L5.017 y L5.022 1992. En las cuales los organismos sobrevivieron en un 100% en todas las concentraciones, por esta razón estas fueron descartadas de inmediato.

Posteriormente se procedió a preparar concentraciones más altas de (20, 40, 60, 80 y 100ppm), en las que se observó que los organismos se comportaron de la misma forma en el 80% de las soluciones.

Esta segunda prueba fue promotora de cambiar las concentraciones a un rango aún más alto de (100, 200, 300, 400, y 500ppm), en las que después de la prueba se eliminaron tres de las concentraciones más altas y aumentamos una en un rango más bajo de (50 ppm) ya que se debe tener un 0% de mortalidad en las pruebas y un 100% de organismos vivos.

Quedando las concentraciones de (50, 100, 150, 200 y 250 ppm) donde se encontró el resultado esperado, la concentración más baja presentó todos los microorganismos vivos, y a medida que la concentración aumentaba, también aumentaba el número de muertes, hasta llegar al 100% de mortandad en la concentración más alta. Cabe aclarar que todas las pruebas se realizaron por cuadruplicado en cada una de las concentraciones y en el blanco de referencia.

#### 4.4.4 Ensayos definitivos con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>.

Se realizaron 10 pruebas definitivas con el Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>, con el fin de garantizar los resultados. De igual manera se, cumplió con los protocolos internacionales, que exigen un mínimo de 10 pruebas con la sustancia o toxico a evaluar. De las 10 pruebas de toxicidad que se realizaron, se obtuvo la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) con sus límites de confianza inferior y superior, utilizando la el método de análisis probit.

#### 4.4.5 Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>

Al momento de calcular la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>, se tuvo en cuenta las 10 pruebas definitivas que se realizaron, utilizando el programa estadístico Probit, en el cual se suministraron los datos de los ensayos, estas pruebas se realizaron durante los meses de julio y agosto de 2008 con los cultivos de *Daphnia pulex*. Los datos se consignan en la Tabla 17.

TABLA17. Concentración letal media del Glifosato *ROUNDUP®* 747<sub>SG</sub> y su respectiva varianza.

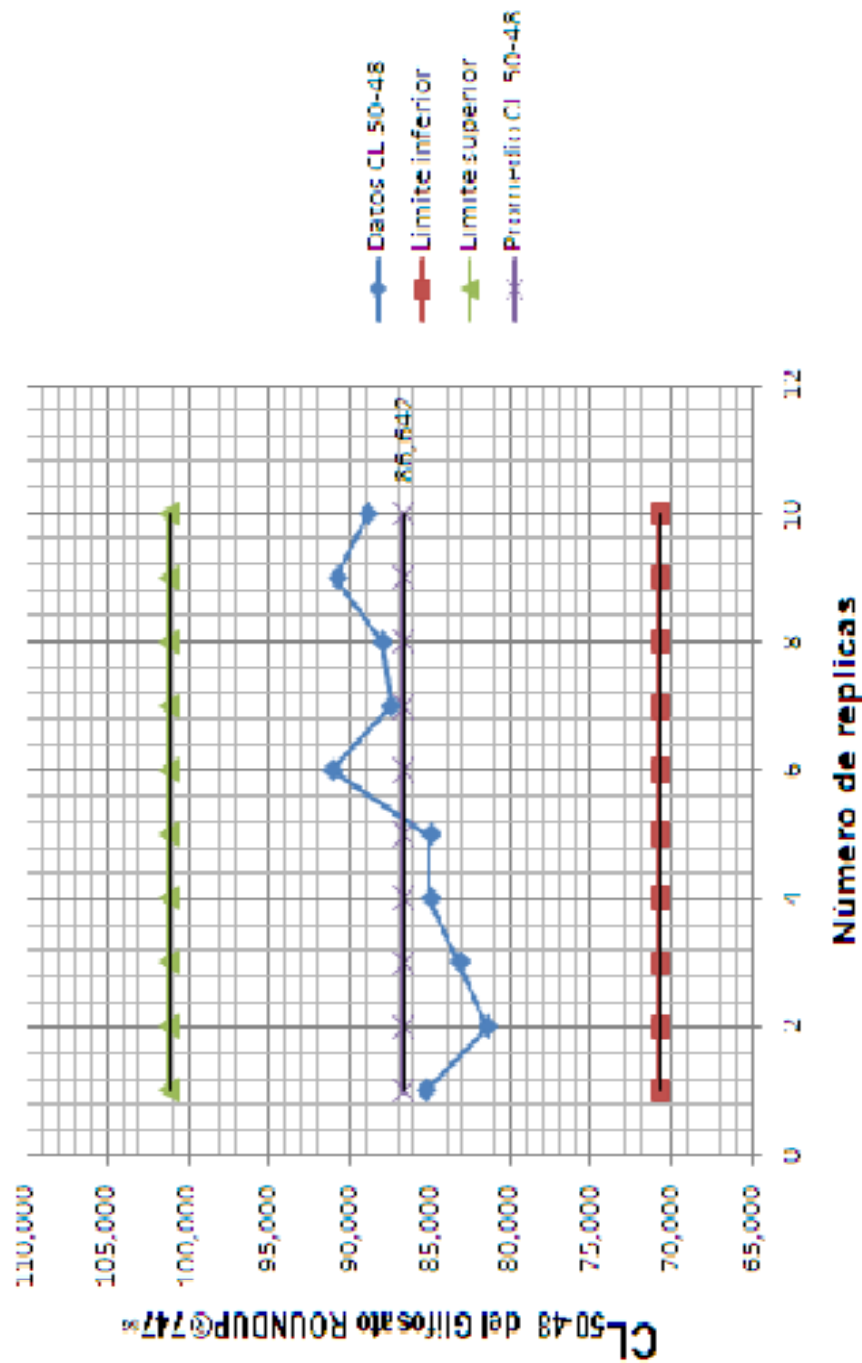
1	2	3	5		6	
No.	Fecha	$(CL_{50-48})$ (mg/L)	95% Limite de confiabilidad		Varianza	
Pruebas			Límite Inferior (mg/L)	Límite superior (mg/L)	F calculado	$F_{0,05}$ Teórico
1	28/08/2008	85.311	69.740	99.507	130.76	2.77
2	28/08/2008	81.525	66.866	95.020	697	
3	28/08/2008	83.220	67.823	97.240	507	
4	28/08/2008	85.018	70.817	98.274	697	
5	30/08/2008	85.018	70.817	98.274	657	
6	30/08/2008	91.108	75.979	105.078	300	
7	30/08/2008	87.495	69.706	103.617	300	
8	30/09/2008	88.020	70.723	103.817	240	
9	30/09/2008	90.796	73.066	106.728	459	
10	30/09/2008	88.913	71.917	104.232	625	
	<b>Promedio</b>	<b>86.642</b>	<b>70.745</b>	<b>101.179</b>	<b>498</b>	<b>2.77</b>

Fuente. Autores

NOTA: Como se observa en el análisis de la concentración letal ( $CL_{50-48}$ ) del glifosato *ROUNDUP®* 747<sub>SG</sub>, los valores de toxicidad oscilan entre un rango de 70.745 – 101.179 y un promedio de 86.642 mg/l.

En la gráfica 2 se representan las distribuciones de las diferentes concentraciones letales medias ( $CL_{48}^{50}$ ) del glifosato, obtenidas durante el periodo experimental de las *Daphnia pulex*, así como su promedio y sus límites superior e inferior.

GRAFICA 2 Concentración letal media del Glifosato ROUNDUP® 747sg



Fuente: Autores

Con el dato obtenido de la concentración letal (CL<sub>50-48</sub>) del Glifosato ROUNDUP® 747<sup>SG</sup>, se puede afirmar que es de alta confiabilidad por el cumplimiento de los protocolos establecidos por el laboratorio de bioensayos de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle; Por tal razón la comparación que se hace en la Tabla 18, con otros resultados, son datos que se encuentran en medio de los rangos ya establecidos en estudios realizados por organizaciones de amplio reconocimiento a nivel mundial, que se preocupan por la protección del medio ambiente. Lo que demuestra que la investigación realizada verifica el buen desarrollo de la investigación.

Tabla 18. Comparación de resultados obtenidos por diferentes estudios de toxicidad con Glifosato.

AÑO	ORGANISMOS ACUÁTICOS	CL <sub>50</sub>	REFERENCIA
1994	<i>Daphnia magna</i>	780 ppm	Organización Mundial de la Salud; en el estudio titulado "The low mobility of glyphosate in soil indicates a minimal potential for the contamination of drinking-water from groundwater aquifers. There have been no reported incidences of drinking-water contamination with glyphosate,".1994
2000	<i>Daphnia pulex</i>	19 mg/L	Documento Plan de Manejo Ambiental Erradicación de Cultivos Ilícitos. 2000
2004	<i>Daphnia pulex</i>	242 ppm	Estudio realizado por la Oficina de Programas de Plaguicidas (OPP) que pertenece a la agencia de protección ambiental (EPA 2004).
2008	<i>Daphnia pulex</i>	86.642 mg/L	PIÑEROS Y QUINTERO, 2008

Fuente. Autores.

#### 4.4.6 Análisis de varianza de las pruebas definitivas del Glifosato ROUNDUP® 747<sup>SG</sup>.

El análisis de varianza se realizó siguiendo la metodología del protocolo LB07 "Análisis de Varianza", que se encuentra en el Laboratorio de Bioensayos, Facultad de Ingeniería Ambiental.

Para la realización de la ANOVA de cada una de las pruebas, se postuló la hipótesis nula y la hipótesis alternativa de la siguiente forma:

**Ho:** Las diferentes concentraciones producen el mismo efecto en todos los organismos.

**H1:** Las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos.

Para el análisis del resultado se debe tener en cuenta la siguiente condición:

**F<sub>c</sub> > F<sub>t</sub>:** se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa.

**F<sub>c</sub> < F<sub>t</sub>:** se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

Los datos que se calcularon se muestran en la Tabla 17, de los resultados del F calculado y el F teórico para las 10 pruebas definitivas de Glifosato *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>* realizadas.

Como lo muestra la Tabla 17,  $F_c > F_t$ , en las 10 pruebas definitivas, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se garantiza la validez de los datos, mostrando que todos los datos hallados cumplen con la relación descrita anteriormente.

#### 4.5 GLIFOSATO *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>*; SUSTANCIA DE INTERÉS SANITARIO

Con la recopilación de la información del grado de afección del glifosato y la inclusión de éste en la normatividad se pretende prevenir y minimizar los impactos y riesgos a los seres humanos y al medio ambiente ocasionados durante las diferentes etapas del ciclo de vida del Glifosato *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>*, garantizando el crecimiento económico, la competitividad, el bienestar social y la protección de los recursos naturales, mediante la promoción de prácticas ambientalmente sanas y seguras y la racionalización y optimización del uso de los plaguicidas.

##### 4.5.1 Marco Legal

En el Decreto 1594 del 26 de Junio de 1984, expedido por el Ministerio de Salud, Capítulo I, Artículo 20 se encuentra establecidas las sustancias de interés sanitario; cómo se puede observar en el cuadro a continuación no se encuentra el Glifosato ni su componente activo como una sustancia de interés sanitario. Por esto que se toma como base este Decreto para proponer que el Glifosato *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>* sea incluido.

Artículo 20: Considérense SUSTANCIAS DE INTERES SANITARIO las siguientes:

CUADRO 5. Sustancias de interés sanitario.

COMPUESTOS	SUSTANCIAS
	Arsénico, Bario, Cadmio, Cianuro, Cobre, Cromo, Mercurio, Níquel, Plata, Plomo, Selenio, Acenafteno, Acroleína, Acrilonitrilo, Benceno, Bencidina, Tetracloruro de Carbono (Tetraclorometano).
Bencenos clorados diferentes a los Diclorobencenos	Clorobenceno 1, 2, 4 - Triclorobenceno Hexaclorobenceno
Etanos clorados	1, 2 - Dicloroetano 1, 1, 1 - Tricloroetano Hexacloroetano 1, 1 - Dicloroetano 1,1, 2 - Tricloroetano 1, 1, 2, 2 - Tetracloroetano Cloroetano
Cloroalkil éteres	Bis (clorometil) éter Bis (2- cloroetil) éter 2- cloroetil vinil éter (mezclado)
Naftalenos Clorados	2- Cloronaftaleno
Fenoles clorados diferentes a otros de la lista, incluye cresoles clorados	2, 4, 6 - Triclorofenol Paraclorometacresol Cloroformo (Triclorometano) 2- Clorofenol
Diclorobencenos	1, 2 - Diclorobenceno 1, 3 - Diclorobenceno 1, 4 – Diclorobenceno
Diclorobendina	3, 3 – Diclorobencidina
Dicloroetilenos	1, 1 - Dicloroetileno 1, 2 - Trans- dicloroetileno 2, 4 – Diclorofenol
Dicloropropano y dicloropropeno	1, 2 - Dicloropropano 1, 3 - Dicloropropileno (1,3 Dicloropropeno) 2, 4 – Dimetilfenol
Dinitrotolueno	2, 4 - Dinitrotolueno 2, 6 - Dinitrotolueno 1, 2 - Difenilhidracina Etilbenceno Fluoranteno
Haloéteres (diferentes a otros en la lista)	4- Clorofenil fenil éter 4 - Bromofenil fenil éter Bis (2 - Cloroisopropil) éter Bis (2 Cloroetoxi) metano

Halometanos (diferentes a otros en la lista)	Metilen cloruro (diclorometano) Metil cloruro (clorometano) Metil bromuro (Bromometano) Bromoformo (tribomometano) Diclorobromometano Triclorofluorometano Diclorodifluorometano Clorodibromometano Hexaclorobutadieno Hexaclorociclopentadieno Isoforon Naftaleno Nitrobenceno
Nitrofenoles	2 - Nitrofenol 4 - Nitrofenol 2 - 4 Dinitrofenol 4, 6 - Dinitro -o – Cresol
Nitrosaminas	N - Nitrosodifenilamina N - Nitrosodi -n- Propilamina Pentaclorofenol Fenol N – Nitrosodimetilamina
Ftalato Esteres	Bis (2 - Etilhexil) ftalato Butil Benzil ftalato Di - n - butil ftalato Di - n - octil ftalato Dietil ftalato Dimetil ftalato
Hidrocarburos aromáticos polinucleares	Benzo (a) antraceno (1,2 -benzantraceno) Benzo (a) pireno (3,4 - benzonpireno) 3, 4 - Benzofluoranteno Benzo (k) fluoranteno (11, 12 - benzo fluoranteno) Criseno Acenaftileno Antraceno Benzo (ghi) perileno (1, 12 - benzoperileno) Fluoreno Fenantreno Dibenzo (a, h) Antraceno (1, 2, 5, 6 - dibenzoantraceno) Indeno (1, 2, 3 -de) pireno (2, 3 -o - fenil enepireno) Pireno Tetracloroetileno Tolueno Tricloroetileno Vinil ]cloruro (cloroetileno)

Pesticidas y Metabolitos	Aldrín Dieldrín Clordano
DDT y Metabolitos	4,4'- DDT 4,4'- DDE (p,p'- DDX) 4,4'- DDD (p,p'- TDE)
Endosulfan y Metabolitos	Endrín Endrín Aldehído
Heptacloro y Metabolitos	Heptacloro epóxido
Hexaclorociclohexano (todos los isómeros)	a - BHC - Alpha b - BHC - Beta r - BHC (lindano) - Gamma g - BHC Delta
Bifenil Policlorados	PCB - 1242 (Arocloro 1242) PCB - 1254 (Arocloro 1254) PCB - 1221 (Arocloro 1221) PCB - 1232 (Arocloro 1232) PCB - 1260 (Arocloro 1260) PCB - 1016 (Arocloro 1016) Toxafeno Antimonio (total) Asbesto (fibras) Berilio Cinc 2, 3, 7, 8 Tetraclorodibenzo-p-dioxin (TCDD)
Compuestos adicionales	Acido Abiético Acido Dehidroabiético Acido Isopimárico Acido Pimárico Acido Oleico Acido Linoleico Acido Linolénico 9, 10 Acido epoxisteárico 9, 10 Acido Diclorosteárico Acido Monoclorodehidroabiético Acido Diclorodehidroabiético 3, 4, 5 Tricloroguayacol Tetracloroguayacol Carbamatos Compuestos fenólicos Difenil policlorados Sustancias de carácter explosivo, radioactivo, patógeno

Fuente. Decreto No. 1594 del 26 de junio de 1984

Con el propósito de lograr la protección de los Derechos Colectivos de gozar de un ambiente sano, de garantizar, de aprovechar y restaurar los recursos naturales, las especies animales y vegetales y las diversas áreas de importancia ecológica están escritas en la Constitución Política Nacional de Colombia en el Título II De los Derechos, Las Garantías y Los Deberes, capítulo 3: De los Derechos Colectivos y del Ambiente en el artículo 79 al 81. Igualmente gracias a la creación del Ministerio del Medio Ambiente con la Ley 99 de 1993 y a la inclusión de algunos principios como el tener en cuenta el derecho de los seres humanos a una vida saludable y productiva en armonía con la naturaleza, y al mantener la exigencia de llevar a cabo estudios de impacto ambiental como un instrumento básico para la toma de decisiones con respecto a las actividades que afecten significativamente el medio ambiente natural o artificial y a la incorporación de los costos ambientales y el uso de los instrumentos económicos para la prevención, corrección y restauración del deterioro ambiental y para la conservación de los recursos naturales renovables.

A nivel internacional, el país ha participado en la definición y compromisos en la protocolización de convenios, que propenden por el mejoramiento ambiental global. En la reunión internacional denominada Cumbre de la Tierra, llevada a cabo en Río de Janeiro se establecen compromisos ambientales internacionales en los capítulos de la denominada Agenda 21 relacionados con el Fomento de la Agricultura y del Desarrollo Rural Sostenible, Conservación de la diversidad biológica, Manejo de Aguas, Fortalecimiento del papel de los agricultores, Gestión Ecológicamente Racional de los Desechos Peligrosos, Protección y Fomento de la Salud humana documento que se convirtió en la base de compromisos ambientales internacionales. Se define como el principal objetivo de la agricultura y el desarrollo rural sostenible es aumentar la producción de alimentos de manera sostenible y mejorar la seguridad alimentaria.

Es preciso dar prioridad al mantenimiento y mejoramiento de la capacidad de las tierras agrícolas con mayores posibilidades para responder a la expansión demográfica. Sin embargo, también es necesario conservar y rehabilitar los recursos naturales de tierras con menores posibilidades con el fin de mantener una relación hombre/tierra sostenible.

El problema de la protección del agua se refiere no solo a su cantidad, sino a su calidad. Algunas modificaciones que el hombre introduce en el ambiente influyen de manera negativa en el ciclo hidrológico; disminuyendo la oferta natural de agua frente a una demanda siempre creciente.

El derecho a la conservación y disfrute de un ambiente sano y de la promoción y de la preservación de la calidad de vida, así como la protección de los bienes, riquezas y recursos ecológicos y naturales, es objeto de grandes reflexiones y preocupaciones del derecho. El problema ecológico y natural, es hoy en día un clamor universal y ante todo un problema de supervivencia.

La protección ambiental es la respuesta a un problema que se sigue agravando cada día más, obteniendo una relación vida-muerte: la contaminación con el herbicida ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> de los ríos y mares da como resultado la progresiva desaparición de la fauna y la flora que aquí encontramos, otros problemas secundarios es la modificación de la capa de ozono, el ruido, la deforestación, el aumento de la erosión, entre otros, son apenas cuestiones tan vitales que merecen una decisión firme y unánime de la población mundial; donde el patrimonio natural de un país pertenece a las personas que en él viven, pero también a las generaciones venideras, ya que estamos en la obligación de entregar el legado recibido en condiciones óptimas a nuestros descendientes.<sup>62</sup>

#### 4.5.1.1 Normas Colombianas (Plaguicidas)

Igualmente en Colombia se tiene un sin número de normatividad sobre plaguicidas, fungicidas, herbicidas e insecticidas; pero ninguna de ellas se encuentra mencionada una sustancia nociva para la salud y para el medio ambiente como lo es el glifosato. Las leyes Colombianas son rigurosas pero no hay quien las haga cumplir a cabalidad. A continuación se relacionan dicha normatividad.

CUADRO 6. Resumen Normatividad Colombiana sobre plaguicidas

NORMA	DISPOSICION
Ley 203 de 1938	La cual dicta disposiciones sobre la inspección y control del comercio y aplicación de insecticidas y fungicidas y maquinaria para el empleo de los mismos.
Ley 9 de 1979	Código Sanitario Nacional. Esta ley fue reglamentada por el mismo Ministerio de Salud a través del Decreto 1843 del 22 de julio 1991, el cual a partir de unas nuevas disposiciones generales y definiciones, constituye el marco con el cual se rigen en la actualidad las actividades relacionadas con los plaguicidas en aspectos tales como la producción, proceso y formulación, almacenamiento, distribución, transporte, aplicación aérea de plaguicidas y las medidas de protección del ambiente y de las personas.
Ley 253 de 1996	Por medio de la cual se aprueba el Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación, dentro de los cuales se incluyen los desechos corrientes resultantes de la producción y la utilización de biocidas y productos fitofarmacéuticos. Igualmente se incluyen como desechos aquellos que tengan como constituyentes, diferentes elementos o compuestos químicos considerados contaminantes.

<sup>62</sup> Corte Constitucional. Sentencia T-405 del 23 de Septiembre de 1993.

Decreto 557 de 1957	Reglamentó el registro de plaguicidas de uso agrícola y hacía referencia a las operaciones de reempaque.
Decreto 219 de 1966	Reglamentó la Asistencia técnica y dictó normas sobre la autorización escrita de un Ingeniero Agrónomo para efectuar aplicaciones de plaguicidas.
Decreto 2811 de 1974	Código Nacional de los Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente. Establece los criterios generales sobre la protección a los recursos renovables y al medio ambiente.
Decreto 1541 de 1978	Reglamenta la parte III de Libro II del Código de los Recursos Naturales en lo concerniente a las aguas no marítimas y modifica parcialmente la Ley 23 de 1973. Igualmente en su Capítulo I Título IX, establece la clasificación de las aguas con respecto a sus vertimientos y el control de los mismos.
Decreto 1594 de 1984	Reglamentario de la Ley 9 de 1979 y del Decreto 2811 de 1974 en cuanto al uso del agua y sus residuos líquidos. En el Artículo 20 de dicho Decreto se consideran las sustancias de interés sanitario dentro de los cuales están los pesticidas y sus metabolitos. En los Artículos 37 al 45 se establecen los criterios de admisibilidad del recurso para consumo humano, la preservación de la fauna y flora entre otros. Del Artículo 60 hasta el 97 correspondientes al Capítulo VI, hacen referencia a Vertimientos de Líquidos, destacándose especialmente los Artículos 71, 74 y 84
Decreto 1974 de 1989	Reglamentación sobre Distritos de Manejo Integrado de los Recursos Naturales Renovables. En dicho Decreto se indica en el Capítulo V Numeral 4 la recuperación para la producción de los suelos y cuerpos de agua que presentan procesos de contaminación por manejo inadecuado de agroquímicos.
Resolución 1300 de 1956	La cual reglamentó la importación, manufactura, comercio, uso y aplicación de los plaguicidas. Características de los productos y antidotos. Además establece daños a terceros.
Resolución 010834 de 1992	Expedida por el Ministerio de Salud, por la cual se reglamenta parcialmente el capítulo III del decreto 1843 de 1991. Con esta resolución se logran ampliar las categorías y los criterios para la clasificación toxicológica de los plaguicidas, pasando de tres a cuatro categorías; y teniéndose en cuenta los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dosis letal media oral y dérmica y concentración letal media inhalatoria en ratas.</li> <li>• Estudios de toxicidad crónica.</li> <li>• Efectos potenciales cancerígenos, mutagénicos y teratogénicos.</li> <li>• Presentación y formulación.</li> <li>• Forma y dosis de aplicación.</li> <li>• Persistencia y degradabilidad.</li> <li>• Acción Tóxica, aguda, subaguda y crónica en humanos y animales.</li> <li>• Factibilidad de diagnóstico médico y tratamiento con recuperación total.</li> <li>• Efectos ambientales a corto plazo</li> </ul>

Decreto 475 de 1998	Por el cual se expiden normas técnicas de calidad del agua potable. En este decreto se determinan las Concentraciones máximas admisibles para los Plaguicidas en el agua potable.
---------------------	---

Fuente: Autores

#### 4.5.2 Efectos sobre la salud

##### 4.5.2.1 Toxicidad aguda

Los plaguicidas que contienen glifosato como el ROUNDUP® están registrados en Colombia en la clase toxicológica IV, levemente tóxicos; pero en Estados Unidos estos herbicidas ya han sido reclasificados por la Agencia de Protección Ambiental EPA (2004) en la clase II, altamente tóxicos, por ser irritantes de los ojos; aunque la Organización Mundial de la Salud (1994) ha encontrado efectos más serios; clasificándolo en categoría I, extremadamente tóxico.

El ROUNDUP® está en varios países entre los primeros plaguicidas que causan incidentes de envenenamiento en humanos. La mayoría de éstos han involucrado irritaciones dermales y oculares en trabajadores, después de exposición durante la mezcla, cargue o aplicación. También se han reportado náuseas y mareos después de la exposición, así como problemas respiratorios, aumento de la presión sanguínea y reacciones alérgicas.<sup>63</sup>

##### 4.5.2.2 Toxicidad crónica<sup>2</sup>

Se ha demostrado que el glifosato es tóxico. Con dosis altas en ratas (900-1.200 mg/kg/día), se observó disminución del peso del cuerpo en hembras, mayor incidencia de cataratas y degeneración del cristalino y mayor peso del hígado en machos. En dosis bajas (400 mg/kg/día), ocurrió inflamación de la membrana mucosa estomacal en ambos sexos. Estudios en ratones con dosis altas (alrededor de 4.800 mg/kg/día) mostraron pérdida de peso, excesivo crecimiento, posterior muerte de células hepáticas e inflamación renal crónica en machos; en hembras, excesivo crecimiento de células renales. A dosis bajas (814 mg/kg/día), se constató excesiva división celular en la vejiga urinaria. Para la EPA (2004), exposiciones continuadas a residuos en aguas en concentraciones por encima de 0.7 mg/L pueden causar daño renal.

#### 4.5.3 Efectos ambientales

La distribución que tiene el plaguicida en el ambiente se muestra en el Figura 41 donde se observan los diferentes afecciones que tiene el plaguicida en el ambiente, los diferentes tipos de contaminación de plaguicidas como Glifosato ROUNDUP® 747<sup>SG</sup> son:

<sup>63</sup> EPA. Technical Fact Sheets on: Glyphosate. National Primary Drinking Water Regulations. Junio de 1999.

#### ❖ Contaminación del aire

La Fumigación aérea presenta muchos riesgos para el ambiente y para la salud humana, máxime cuando algunas de las pistas utilizadas para esta actividad no cumplen con las mínimas normas de seguridad en su ubicación, operación y manejo.

#### ❖ Contaminación del agua

Los residuos de Glifosato *ROUNDUP® 747*<sup>SG</sup> pueden desplazarse a través de los cuerpos de agua por aspersión accidental, por derivas o por escorrentía superficial, constituyendo un grave peligro para el abastecimiento de agua potable y agua para riego.

Lo anterior contribuye a que los peces puedan acumular el herbicida que los hacen no aptos para el consumo humano.

#### ❖ Contaminación de suelos

Las principales alteraciones que se presentan en el recurso suelo están dadas por la salinidad, la alteración de la fertilidad y la disminución de la fauna y flora. Se considera que el 50% de los plaguicidas utilizados se asienta en los suelos, impidiendo su proceso natural de fertilización. Como consecuencia de ello, estos pierden capacidad, los productos son de menor calidad nutritiva y, en algunos casos, los niveles de contaminación son peligrosos para la salud de quienes los van a consumir.

Adicionalmente, el uso generalizado de plaguicidas elimina los sistemas bioquímicos naturales, es decir, especies útiles que mantienen normalmente bajo control la proliferación de plagas potenciales.

#### ❖ Contaminación de alimentos

Existen investigaciones que demuestran que el glifosato puede ser tomado por las plantas y movido a las partes que se usan como alimento. Por ejemplo, se ha encontrado glifosato en fresas, moras azules, frambuesas, lechugas, zanahoria y cebada después de dos años de su aplicación.<sup>64</sup>

La contaminación de los productos de cosecha debida a sustancias químicas tóxicas puede ocurrir por una de las siguientes vías:

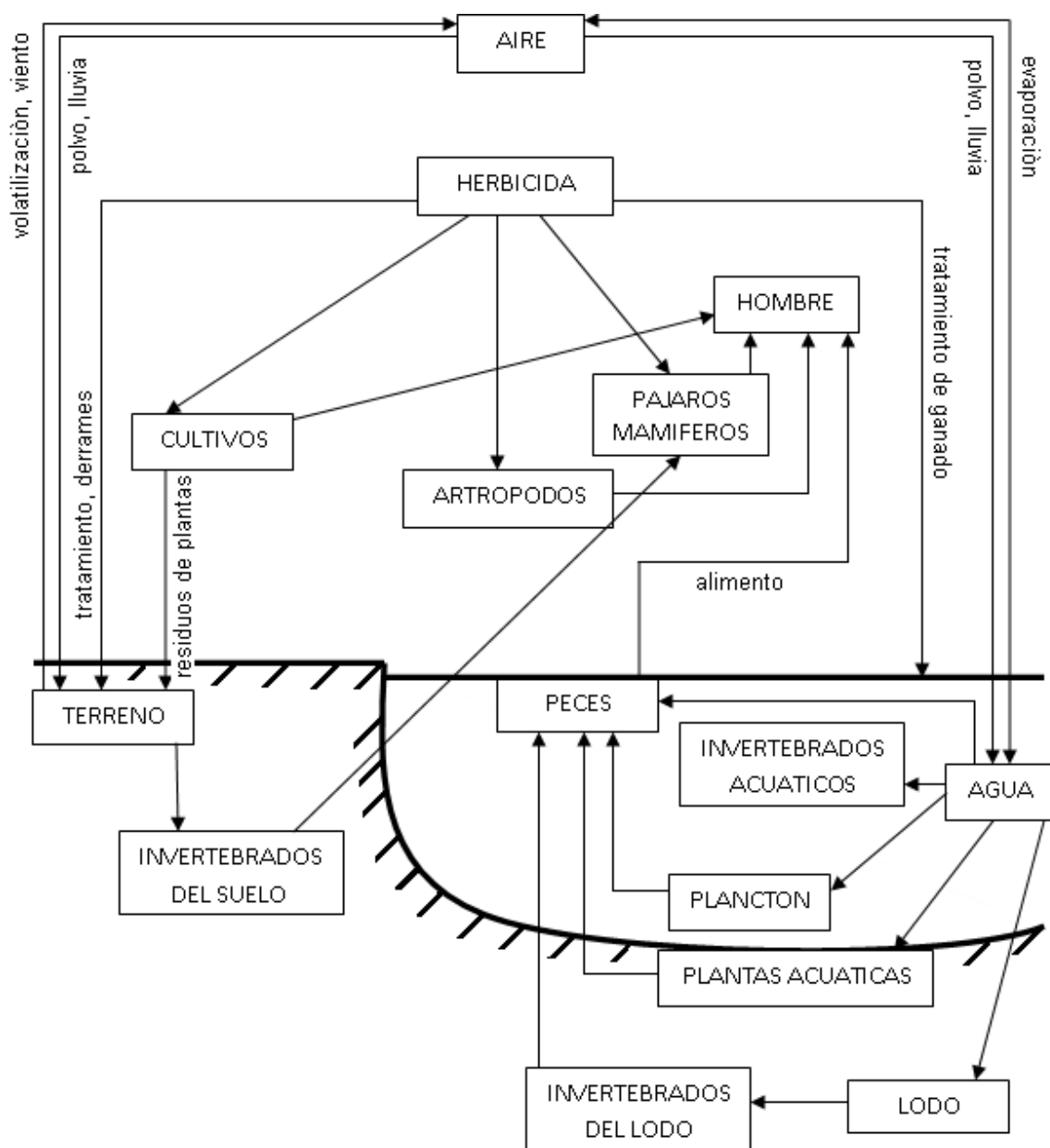
- ✓ Aplicación directa durante el crecimiento
- ✓ Transporte o almacenamiento

---

<sup>64</sup> DARUICH J, ZIRULNIK F, GIMENEZ MS. Effect of the herbicide glyphosate on enzyme activity in pregnant rats and their fetuses. Environmental Research. 2001.Cap. p. 85:226- 231.

- ✓ Permanencia de estas sustancias en el suelo que se transportan en la cosecha
- ✓ Contaminación del agua que se usa para el riego o para consumo de personas y animales;
- ✓ Localización en los animales y aparición en la carne, leche y huevos a través de la cadena alimenticia y por el proceso de biomagnificación, principalmente de insecticidas organoclorados de gran afinidad por las grasas, el organismo humano acumula estas sustancias produciéndose una intoxicación crónica que puede manifestarse en desórdenes orgánicos no identificables con la exposición a plaguicidas

FIGURA 41. Distribución de Herbicidas en el medio ambiente.



Fuente: Anales del centro de ciencias del mar y limnología sobre la dispersión de herbicidas en el medio ambiente marino. UNAM.

#### 4.5.4 Efectos en animales

Chuzco el parrafito que le dije va aca

##### 4.5.4.1 Insectos y otros artrópodos benéficos

En organismos benéficos como las avispas parasitoides y otros artrópodos predadores, al igual que a algunos artrópodos del suelo importantes para la aireación y formar humus; el glifosato tiene una reacción tóxica.<sup>65</sup>

##### 4.5.4.2 Peces y otros organismos acuáticos

Diferentes especies de peces tienen diferentes susceptibilidades al glifosato. Las toxicidades agudas en términos de la CL<sub>50</sub> oscilan entre 3.2 a 52 ppm, lo cual significa toxicidad moderada. Pero el ROUNDUP® es unas 30 veces más tóxico a peces que el glifosato solo, o sea que es desde extremada a altamente tóxico a éstos organismos acuáticos.

Efectos subletales sobre peces también pueden ser significativos y ocurren a bajas concentraciones en el agua. Por ejemplo, en estudios con trucha arco iris y tilapia, concentraciones equivalentes a la mitad y a la tercera parte de la CL<sub>50</sub> causaron nado errático y la trucha también mostró dificultad para respirar. Los cambios de comportamiento alteran su capacidad de alimentación, migración y reproducción y pierden capacidad de defensa.<sup>69</sup>

##### 4.5.4.3 Aves

El glifosato es moderadamente tóxico a aves. Además de efectos directos puede tener impactos indirectos porque mata plantas, por tanto puede causar cambios dramáticos en la estructura de la comunidad de plantas afectando las poblaciones de aves, porque ellas dependen de las plantas para alimentarse, protegerse y anidar.<sup>66</sup>

##### 4.5.5 Casos de afección con glifosato

A continuación se presentan una serie de casos que deben hacer pensar a las autoridades ambientales y de salud, la posibilidad de que el Glifosato en todas sus composiciones comerciales en el mundo y en Colombia sea considerado una sustancia de interés sanitario, por los graves efectos que causan a la salud del ser humano y al medio ambiente.

---

<sup>65</sup> NIVIA, Elsa. Efectos sobre la salud y el ambiente de herbicidas que contienen glifosato. RAPALMIRA. PAN-Colombia. Cali 2002.

<sup>66</sup> NIVIA. Op cit., p. 86

#### 4.5.5.1 Impacto de las fumigaciones en el Ecuador<sup>67</sup>

Este estudio presenta la gran problemática que causa el Glifosato cuando es utilizado para la fumigación de plantaciones de coca y amapola en el departamento de Putumayo, fronterizo con Ecuador que hacen parte del Plan Colombia y la estrategia antidrogas auspiciado por los Estados Unidos.

En el documento encontramos que se han, **provocado graves problemas a la salud en personas y animales, contaminación del suelo, del aire y del agua, destrucción de cultivos alimenticios, la muerte de animales de cría y peces**, que constituyen la base de la seguridad alimentaria de comunidades campesinas e indígenas, atentando contra la biodiversidad de flora y fauna de la Amazonía.

Los efectos ambientales y de salud causados por las fumigaciones con glifosato aumentan considerablemente cuando se fumigan por vía aérea. Ningún piloto, por experimentado que sea, puede evitar la fumigación indiscriminada sobre cultivos, áreas selváticas y seres humanos.

VER DOCUEMNTO COMPLETO EN ANEXO C.

#### 4.5.5.2 Piden la recategorización de glifosato: "alta peligrosidad"<sup>68</sup>

La Cámara de Diputados de la Provincia de Santa Fe (ARGENTINA) solicita al Poder Ejecutivo de la Provincia que realice gestiones ante el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) y demás reparticiones competentes del Gobierno Nacional, para la recategorización del Glifosato (Gly) en todas sus variantes y denominaciones comerciales como fitosanitario de "Peligrosidad Alta".  
VER DOCUEMNTO COMPLETO EN ANEXO C.

#### 4.5.5.3 El glifosato provoca las primeras etapas del cáncer<sup>69</sup>

El profesor Robert Bellé (ahora de 60 años de edad) dirigió un grupo de cinco personas de la Unidad Mar y Salud, en la Estación Biológica de Roscoff (Gran Bretaña), como parte de un proyecto del Centro Nacional de la Investigación Científica (CNRS, Siglas en francés) y la Universidad Pierre y Marie Curie. (Los resultados del proyecto, que comenzó en 1998, se publicaron en la revista científica internacional Toxicological Sciences (Nº 82), en el 2004.)

Al realizar el estudio con Glifosato lo realizaron sobre embriones de erizos de mar, lo que fue cuestionado por Monsanto. Dando la aclaración que el repertorio de la toxicología corresponde al estudio de células ya cancerígenas, mientras que esta investigación era sobre la activación del proceso de cancerización. Monsanto siguió cuestionando del por qué las pruebas con erizos de mar si se estaba

---

<sup>67</sup> [www.accioneecologica.org](http://www.accioneecologica.org) (Alerta verde 115 Setiembre 2001)

<sup>68</sup> <http://www.ecoportal.net/content/view/full/74902> (13-12-07, Por Dip. Provincial Santiago Mascheroni)

<sup>69</sup> [http://www.ecoportal.net/layout/set/print/content/view/full/67940/\(printversion\)/1\(31-03-07](http://www.ecoportal.net/layout/set/print/content/view/full/67940/(printversion)/1(31-03-07), Por Mónica Almeida [Robert Bechtle](http://www.novakart.com) Selling and acquiring works by Robert Bechtle [www.novakart.com](http://www.novakart.com)

extrapolando los resultados al ser humano; les explicaron que todas las células del planeta tienen el mismo origen y que el mecanismo más universal es la división celular. Dando como resultado que a fines del 2001 se premió con el Nobel de Medicina a Leland Hartwell, Paul Nurse y Timothy Hunt por sus trabajos sobre el cáncer con levaduras y erizos de mar. Y desde ahí Monsanto no pudo utilizar argumento validos para derrocar la investigación. VER DOCUEMNTO COMPLETO EN ANEXO C.

#### 4.5.5.4 Inquietantes efectos del ROUNDUP® en los seres humanos y el ambiente<sup>70</sup>

Aquí se puede observar dos estudios realizados recientemente sobre el herbicida ROUNDUP® producido por Monsanto, y sus efectos en seres humanos y animales.

El ROUNDUP®, con su ingrediente activo Glifosato, ha sido considerado durante largo tiempo como un producto seguro para los seres humanos y el ambiente, a la vez de efectivo para la eliminación de malezas. Se utiliza ampliamente junto a los cultivos transgénicos tolerantes a glifosato porque elimina todas las demás plantas salvo los cultivos transgénicos, que son manipulados genéticamente justamente para ser tolerantes al glifosato.

Sin embargo, como indican nuevas investigaciones, el ROUNDUP® también es peligroso para otras formas de vida y organismos.

Por otra parte el biólogo de la Universidad de Pittsburg, Rick Relyea, descubrió que el ROUNDUP® es “muy letal” para los anfibios. Considerado uno de los estudios más amplios sobre los efectos de plaguicidas en organismos no atacados por el producto, en un entorno natural, los resultados de Relyea revelaron que el ROUNDUP® provocó una disminución del 70 por ciento en la biodiversidad anfibia y del 86 por ciento en la cantidad total de renacuajos.

En otro estudio, un grupo de científicos dirigidos por Gilles-Eric Seralini, de la Universidad de Caen, Francia (descubrió que las células de la placenta humana son muy sensibles al ROUNDUP® en concentraciones menores a las de uso agrícola. Esto, señalan, podría explicar los elevados índices de nacimientos prematuros y abortos observados entre mujeres agricultoras de los Estados Unidos que utilizan glifosato.

Hay poderosos intereses en juego, porque el uso de glifosato es inherente al de las plantas modificadas genéticamente, concebidas específicamente para “tolerar” ese ingrediente activo.

---

<sup>70</sup> [http://webs.chasque.net/~rapaluy1/glifosato/Inquietantes\\_efectos.html#1](http://webs.chasque.net/~rapaluy1/glifosato/Inquietantes_efectos.html#1) (por Chee Yoke Heong)

Es por esos efectos alarmantes en los seres humanos y el ambiente que aconsejamos tener cautela en cuanto a la adopción de los cultivos transgénicos tolerantes a glifosato y el uso asociado del herbicida ROUNDUP®. VER DOCUMENTO COMPLETO EN ANEXO C.

#### 4.5.5.5 Seis pueblos de la Pampa Húmeda, Argentina, con malformaciones y niveles de cáncer superiores al normal por el uso de los agrotóxicos<sup>71</sup>

Pampa Húmeda (Argentina) vinculan cáncer y malformaciones con exposición a contaminantes ambientales. Un grupo transdisciplinario relevó 6 pueblos de la Pampa Húmeda y encontró en principio, relaciones causales de casos de cáncer y malformaciones en genitales masculinas entre los habitantes expuestos a factores de contaminación ambiental como lo son agroquímicos. El estudio –preliminar, pero que enciende una luz de alerta– es llevado a cabo por profesionales del Centro de Investigaciones en Biodiversidad y Ambiente (Ecosur), del Hospital Italiano Garibaldi de Rosario, la UNR, el INTA, el Colegio de Ingenieros Agrónomos, y la Federación Agraria Argentina. VER DOCUMENTO COMPLETO EN ANEXO C.

#### 4.5.5.6 Nuevas secuelas del glifosato<sup>72</sup>

Un estudio realizado En el laboratorio del centro académico en Bogotá demostró la capacidad mortífera del Glifosato y del Paraquat, en una investigación con cuatro especies de peces de agua dulce con importancia en la acuicultura colombiana. El estudio fue realizado por investigadores del Laboratorio de Toxicología Acuática de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, donde se comprobaron los efectos nocivos de ambos productos.

La investigación se hizo en los acuarios del centro científico con ejemplares de tilapia, yamú, bocachico y cachama blanca, todas ellas especies de río, que fueron expuestos durante 96 horas a concentraciones sub-letales de glifosato en su forma comercial (ROUNDUP®), entre 10 y 30 partes por millón, y a concentraciones altas, entre 45 y 90 partes por millón.

El director del Grupo de Toxicología Acuática y Ambiental, Jaime Fernando González, dijo que el bocachico y el yamú fueron las especies "más susceptibles a la acción" del glifosato, aun en concentraciones bajas, al presentar "alta mortalidad". Mientras, la tilapia resistió más los efectos del herbicida, al morir sólo cuando se la expuso a concentraciones más altas.

---

<sup>71</sup> <http://www.ecoportail.net/content/view/full/78602> (18-05-08, Por [Darío Aranda](#) \*)

<sup>72</sup> Laboratorio de Toxicología Acuática de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. <http://unperiodico.unal.edu.co/ediciones/109/13.html>

#### 4.5.5.7 Toxicología del glifosato: riesgos para la salud humana<sup>73</sup>

El autor de este artículo pasa revista a los riesgos que esa sustancia conlleva para la salud humana (toxicidad, efectos cancerígenos y reproductivos, acción mutagénica y contaminación de alimentos), al tiempo que alerta sobre las debilidades en los sistemas nacionales que regulan sobre la bio-seguridad.

Kaczewer, Jorge, Universidad Nacional de Buenos Aires, relata que todo producto pesticida contiene, además del ingrediente "activo", otras sustancias cuya función es facilitar su manejo o aumentar su eficacia. Por tanto, las características toxicológicas de los productos de mercado son diferentes a las del glifosato solo. El Glifosato *ROUNDUP® 747*<sup>SG</sup> presenta lagrimeo, coriza, laringitis, cefalea, náusea: Toxicidad aguda. La Agencia de Protección Medioambiental (EPA) ya reclasificó los plaguicidas que contienen glifosato como clase II, altamente tóxicos, por ser irritantes de los ojos. La Organización Mundial de la Salud, sin embargo, describe efectos más serios; en varios estudios con conejos, los calificó como "fuertemente" o "extremadamente" irritantes. El ingrediente activo (glifosato) está clasificado como extremadamente tóxico (categoría I).

En muchos países se implementó el uso de Glifosato *ROUNDUP® 747*<sup>SG</sup>, siendo este producto una de las ayudas principales para los agrónomos; pero con el paso del tiempo se observaron las grandes consecuencias que trajo el producto en la salud humana y en el ambiente dando un llamado a las políticas de los países para evaluar el herbicida, dando como resultado la Tabla 1 9 donde se muestran los valores permisibles o la prohibición de este producto en el territorio.

---

<sup>73</sup> <http://www.chasque.net/guayubira/plantaciones/toxicologia.mht> (Por [Jorge Kaczewer \\*](#))

**TABLA 19.** Normatividad de varios países sobre el uso del Glifosato

PAIS	Límite Permisible (p.p.m.)	Cantidad por Hectárea (Lt/ha.)
ESTADOS UNIDOS	0.7	2.5
ECUADOR	-	2 – 4
COLOMBIA	7 - 12	23.4
CANADÁ	0.28	2.5
BRASIL	Uso de Glifosato Prohibido	
DINAMARCA	Uso de Glifosato Prohibido	
UNIÓN EUROPEA	20 p.p.m. permiso conseguido por Monsanto en cultivo de Soya Trasgenica	-

Fuente: CORDERO HEREDIA, David y SÁNCHEZ, Francisca. BOLETIN 245 de la RED POR UNA AMERICA LATINA LIBRE DE TRANSGENICOS / Coordinación: Acción Ecológica. Regulaciones internacionales del glifosato

Así como el Paraquat, DDT, Endosulfán entre otros son plaguicidas que en la salud humana se clasifican los efectos del uso indiscriminado como agudos que dependen de la cantidad y poder toxico que contenga el producto donde los daños aparecen rápidamente y suelen ser muy graves ó crónicos que aparecen con el tiempo, muchas veces años después de haber estado en contacto con el producto.

Se puede afirmar que gran parte de la población colombiana se encuentra expuesta a plaguicidas no biodegradables (o persistentes). La exposición a otros plaguicidas se encuentra mucho más limitada a los grupos ocupacionalmente expuestos, en especial en las regiones agrícolas. Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de exposición mediante la ingestión de alimentos entre las poblaciones residentes en las regiones donde sea habitual el uso de plaguicidas.

El Paraquat, Captafol, DDT y Endosulfán son productos prohibidos en el territorio Colombiano por su alta peligrosidad y por encontrarse en categoría I; es así como el uso del glifosato *ROUNDUP® 747<sup>SG</sup>* estando catalogado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) como clase II, altamente tóxicos, por ser irritantes de los ojos, igualmente la Organización Mundial de la Salud, describe efectos más serios clasificándolo como "fuertemente" o "extremadamente" irritantes, ubicando el ingrediente activo (glifosato) como extremadamente tóxico, categoría I debería de prohibirse su comercialización y uso; pero en Colombia aún sabiendo la recategorización que la EPA y la OMS le hizo a este producto lo tienen en la categoría IV. La Corte Constitucional en diferentes sentencias se ha pronunciado sobre estos derechos y la responsabilidad que recae en el Estado para su protección en los siguientes términos:

- ❖ DERECHO A LA VIDA<sup>74</sup>: La autoridad estatal está constitucionalmente obligada a no hacer cosa alguna que destruya o debilite el contenido esencial de este derecho, y a crear las condiciones indispensables para que tengan cabal observancia y pleno cumplimiento.  
La garantía del derecho a la vida incluye la protección contra todo acto que amenace dicho derecho, no importa la magnitud o el grado de probabilidad de la amenaza con tal que ella sea cierta
- ❖ DERECHO A GOZAR DE UN AMBIENTE SANO<sup>75</sup>: Este derecho se concibe como el conjunto de condiciones básicas que rodean a la persona y permiten su supervivencia biológica e individual, lo que garantiza a su vez su desempeño normal y su desarrollo integral en el medio social. En este sentido el ambiente sano es un derecho fundamental para la supervivencia de la especie humana, sin embargo, la vulneración del mismo conlleva indeterminados pasos, al quebrantamiento de derechos constitucionales fundamentales como la vida o la salud. Por consiguiente, el Estado debe garantizar el derecho a gozar de un ambiente sano y adoptar las medidas encaminadas a obtener el mejoramiento de la calidad de vida de la población y el aseguramiento del bienestar general, a fin de evitar que se causen daños irreparables a la persona.

Es imperativo concluir entonces que de no ejercer controles efectivos por parte del Estado al tema del uso y manejo del Glifosato *ROUNDUP® 747*<sup>SG</sup> en Colombia se continuará deteriorando el ecosistema, lo que va en contra de la calidad de vida que es un valor merecedor de garantía constitucional en cuanto está vinculado no con aspectos puramente cuantitativos de bienestar sino de orden superior relativos al equilibrio que debe mantenerse en la naturaleza a fin que pueda asegurarse la supervivencia y el adecuado desarrollo de la persona y de las generaciones venideras, es por esto la propuesta de incluir este producto como una sustancia de interés sanitario en la reforma que el Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial esta a puertas de realizar al Decreto 1594 de 1984.

---

<sup>74</sup> Corte Constitucional Sentencia T-102 de Marzo 10 de 1993 MP Carlos Gaviria Díaz

<sup>75</sup> Corte Constitucional Sentencia SU-442 de Septiembre 16 de 1997 MP Hernando Herrera Vergara

## 5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos durante la realización de las pruebas toxicológicas con Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> se puede concluir:

- Se determino la concentración letal media del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> sobre *Daphnia pulex*, obteniendo como resultados los valores de toxicidad que oscilan entre un rango de 70.745 – 101.179 y un promedio de 86.642 mg/l. Con el dato logrado de la concentración letal (CL<sub>50-48</sub>) del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> se puede afirmar que es de alta confiabilidad por el cumplimiento de los protocolos establecidos para el laboratorio de bioensayos. Por tal razón la comparación que se hace con otros resultados son datos que se encuentran muy cerca a los obtenidos en la investigación, para así poder demostrar que la investigación es aceptada.
- Se determinó la concentración letal media del Glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> sobre *Daphnia pulex*, obteniendo como resultado 86.642 mg/l; lo que causa gran impacto a ecosistemas acuáticos teniendo en cuenta que en este rango ocasiona efectos mortales al 50% de organismos existentes en una batería de ensayo.
- La realización de las pruebas de sensibilidad fueron el mecanismo por el cual se pudo establecer la carta de control, identificando que los bioensayos son un medio efectivo para desarrollar el test de toxicidad con la *Daphnia pulex*.
- La concentración letal media CL<sub>50-48</sub> promedio obtenida en las pruebas de sensibilidad que se realizaron es 0.2958 mg/L y sus límites de confianza son 0,2559 y 0,3369 mg/L expresados como Dicromato de Potasio. Existen datos de pruebas de sensibilidad con dicromato de potasio que nos hacen corroborar que los datos obtenidos por nuestras pruebas están dentro de los rangos anteriormente encontrados por otros investigadores de bioensayos de La Salle.
- En los análisis de varianza realizados a los test de toxicidad, se rechaza la hipótesis nula, ya que las diferentes concentraciones producen un diferente efecto en todos los organismos.
- Durante el desarrollo de los ensayos se observó que al existir cambios en las condiciones del ambiente del laboratorio donde se tienen los cultivos, se produce un aumento en la mortalidad de los microorganismos, lo que nos asegura que estos son muy sensibles a los factores ambientales como:

los cambios bruscos de temperatura, pH, olores fuertes, oxígeno disuelto, sustancias químicas, dureza del agua, alteración del alimento, cambios de luz, entre otros.

- Con base en la información recopilada y con la reclasificación de la EPA al producto ROUNDUP®, se parte de que el glifosato es un herbicida, con un alto nivel de toxicidad clasificado en el nivel II (Meister 1995); el cual es capaz de afectar gravemente la salud de organismos complejos, causando diferentes efectos, debido a su toxicidad, entre los cuales resaltan: Síntomas de convulsión, temblor y salivación, hasta la muerte.
- Existen riesgos considerables para algunos animales acuáticos silvestres localizados en aguas tanto lénticas como lóticas, asociando las actividades que contengan riesgos naturales tales como la tala y quema de tierras vírgenes sin ningún control, los riesgos son equivalentes a los que trae el Roundup. Según los artículos expuestos en el ANEXO C.
- El uso del Glifosato ROUNDUP® 747<sup>SG</sup> acaban con los cultivos y animales, contaminan fuentes de agua, por tanto los campesinos se ven obligados a abandonar las zonas que están siendo asperjadas. Sus derechos humanos son violados por esta transgresión de la soberanía individual, puesto que sus hogares son fumigados y migran a los cascos urbanos de las ciudades creando cinturones de miseria.
- La implementación de bioensayos puede consolidarse como mecanismo de monitoreo ambiental eficiente, debido a que brinda datos de asimilación de los organismos al momento de ser expuestos con sustancias tóxicas; igualmente los bioensayos puede asegurarse que es un mecanismo de monitoreo ambiental eficiente, debido a que brinda datos de asimilación de los organismos al momento de ser expuestos con sustancias tóxicas

## 6. RECOMENDACIONES

- Se hace necesario que el Departamento Administrativo de Salud de los municipios donde se realicen actividades con el producto glifosato diseñe e implemente un Sistema de Vigilancia Epidemiológica para la notificación obligatoria de todo accidente tóxico por plaguicidas, como está contemplado en el Decreto 1843 de 1991 del Ministerio de Salud.
- Diseñar programas de capacitación destinados a informar a la comunidad como a las autoridades sobre el manejo seguro de plaguicidas y en especial de las consecuencias del Glifosato *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>* y la toxicología de los mismos.
- Se requieren programas de educación continuada al personal de salud del departamento que mantenga y persista en el uso del Glifosato *ROUNDUP® 747<sub>SG</sub>*, que les permitan ofrecer un adecuado diagnóstico y tratamiento de los accidentes tóxicos por el plaguicida y ser efectivos notificando los mismos al Sistema de Vigilancia Epidemiológica para plaguicidas.
- Se recomienda eliminar el uso del Glifosato en zonas cercanas a poblaciones, con el fin de evitar que este afecte la salud de las mismas. Igualmente se recomienda el uso del Glifosato con aspersiones manuales en áreas donde se presenten plantaciones de narcóticos, ya que éste es un herbicida eficaz para su eliminación; buscando la minimización del riesgo del producto en las poblaciones y en el ambiente que están expuestos a aspersiones excesivas. Reducción de regiones impactadas debido a la deforestación y siembra de coca y amapola identificadas como fuentes importantes de biodiversidad.
- Con base en los estudios realizados encontrados en la documentación recopilada a lo largo del desarrollo del proyecto se puede afirmar que en Colombia no se ha desarrollado ninguna política para regular apropiadamente plaguicidas con el espectro que ofrece el Glifosato *ROUNDUP®* teniendo presente que la Agencia de Protección Ambiental (EPA) ya reclasificó los plaguicidas que contienen glifosato como clase II, altamente tóxicos, por ser irritantes de los ojos, igualmente la Organización Mundial de la Salud, describe efectos más serios clasificándolo como "fuertemente" o "extremadamente" irritantes, ubicando el ingrediente activo (glifosato) como extremadamente tóxico, categoría I. Esta deficiencia se relaciona también con la falta de criterio científico en la toma de decisiones y en el establecimiento de estándares en la reglamentación sobre bioseguridad. Por esta razón se busca dar soluciones que mitiguen los

perversos efectos sobre los individuos expuestos al glifosato. En esa misma línea, se debe estudiar porque en la legislación Colombiana no hay nada que verse en lo relativo a la relación entre fumigaciones con glifosato Roundup y desplazamiento. Es por esto la propuesta de incluir el plaguicida glifosato ROUNDUP® 747<sub>SG</sub> como una sustancia de interés sanitario, dando seguridad a la salud y al medio ambiente de las comunidades afectadas tanto directa como indirectamente por la gran problemática que este producto a traído consigo desde su llegada a nuestra patria.

## 7. BIBLIOGRAFIA

Anales del centro de ciencias del mar y limnología sobre la dispersión de herbicidas en el medio ambiente marino. UNAM.

BERNAL PAREDES Alba Janneth y ROJAS AVELLA Andrea Paola, determinación letal media (CL<sub>50-48</sub>) del mercurio por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de La Salle 2007.

CASTILLO, Gabriela. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. 2001. p. 55

CORDERO HEREDIA, David y SÁNCHEZ, Francisca. Boletín 245 de la red por una América latina libre de transgénicos / coordinación: acción ecológica. Regulaciones internacionales del glifosato

Corte Constitucional Sentencia SU-442 de Septiembre 16 de 1997 MP Hernando Herrera Vergara

Corte Constitucional Sentencia T-102 de Marzo 10 de 1993 MP Carlos Gaviria Díaz

COX, Caroline. Glyphosate : Toxicology and Human exposure and ecological effects En: Journal of Pesticides Reform, Volume 15, Number 3, Fall 1995. Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides, Eugene, OR. USA. 13 p.

CRUZ TORREZ Luís Eduardo; DIAZ BAEZ, María Consuelo; REYES, Carmen; Ensayos de toxicidad y su aplicación al control de la contaminación industrial; Universidad Nacional; Facultad de Ingeniería.1996. p. 15 – 22

DARUICH J, ZIRULNIK F, GIMENEZ MS. Effect of the herbicide glyphosate on enzyme activity in pregnant rats and their fetuses. Environmental Research. 2001.Cap. p. 85:226- 231.

DINHAM, Barbara. Resistance to glyphosate. En: Pesticides News 41: 5, The Pesticides Trust. PAN-Europe. London, UK. 1998.

EPA. Technical Fact Sheets on: Glyphosate. National Primary Drinking Water Regulations. Documento obtenido por Internet, junio de 1999.

ESCOBAR MALAVER, Pedro Miguel. Implementación de un sistema de alerta de riesgo toxicológico utilizando *Daphnia pulex* para la evaluación de riesgos ambientales. Santafé de Bogotá D. C., 1997; p.23-24

ESPINDOLA D., Cecilia. Prácticas de biología de organismos multicelulares. Publicado por Pontificia Universidad Javeriana

ESPINOSA y JARRO, Determinación del intervalo de sensibilidad con cromo hexavalente en dos especies de cladóceros bajo condiciones de alimentación controladas. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología 1999

Estudio de los efectos del Programa de Erradicación de Cultivos Ilícitos mediante la aspersión aérea con el herbicida Glifosato (PECIG) y de los cultivos ilícitos en la salud humana y el medio ambiente. Informe preparado para la Comisión Interamericana para el Control del Abuso de Drogas (CICAD), División de la Organización de los Estados Americanos (OEA) Washington, D.C., Estados Unidos de América, 31 de marzo de 2005

FAO. Manual de Métodos de Investigación del Medio Ambiente Acuático. Parte 4<sup>a</sup>. Bases para la Elección de Ensayos Biológicos para Evaluar la Contaminación Marina. FAO, 1981. 34 p.

GONZÁLEZ GÓMEZ, Henry Bernardo y GUTIÉRREZ ÁLVAREZ, Sandra del Pilar. Clasificación y ciclo de vida de una especie *Daphnia* nativa de la sabana de Bogotá. Universidad de La Salle, 1995.

Instituto Colombiano Agropecuario ICA. División Insumos Agrícolas. Listado general de plaguicidas registrados hasta agosto 26 de 1998. Santafé de Bogotá. 21 p

IRLEVA I.V., Mass cultivation of invertebrates biology and methods. Academy of Sciences of the USSR. All Union Hydrobiological Society and Israel Program for Scientific Translations. Cap. Branchiopoda 52–78, *Daphnia* 79–120. 1973

MARCANO, José E. Educación Ambiental, Elemento de ecología; Ecología de las aguas dulces 2° parte; clasificación ecológica de los organismos de agua dulce y comunidades del medio acuático.

MEISTER, Richard. Farm Chemicals Handbook. Meister Publishing Company. Willoughby, USA. 1995. p 922

NIVIA, Elsa. Efectos sobre la salud y el ambiente de herbicidas que contienen glifosato. RAPALMIRA. PAN-Colombia. Cali 2002.

OROZCO HOLGUÍN, Juliana y TORO BARBIER, Angela María. Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del cromo y el cobre por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle 2006

RODRÍGUEZ, J. y ESCLAPÉS, M.. Protocolos Estándares para Bioensayos de Toxicidad con Especies Acuáticas. Versión 10. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. INTEVEP. PDVSA. 1995 Venezuela. 109 pp.

SMITH EA, OEHME FW. The biological activity of glyphosate to plants and animals: A literature review. 1992. Cap. p. 34:531-543.


TORTORELLI, M. Y HERNÁNDEZ, D.. CALIDAD de agua de un ambiente acuático sometido a efluentes contaminantes. Ecosistemas de aguas continentales. TOMO I. Ediciones Sur. La Plata – ARGENTINA. 1995 p. 217-230.

ZAMBRANO USSA, Bertha Rossana y BELTRAN TORRES John Jairo. Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50-48</sub>) del fenol en los vertimientos de la Clínica Veterinaria de la Universidad de La Salle – Sede Floresta, por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*. Universidad de la Salle 2008

- <http://www.monografias.com/trabajos11/clado/clado.shtm>.
- [http://www.dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/glifosato.pdf](http://www.dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/glifosato.pdf)
- <http://www.minambiente.gov.co>
- <http://www.epa.gov>
- [http://www.mindefensa.gov.co/dayTemplates/Glifosato/informe\\_glifosatooea.pdf](http://www.mindefensa.gov.co/dayTemplates/Glifosato/informe_glifosatooea.pdf)
- <http://www.revistarenovacion.com.ar/ecologia.htm>
- [http://www.dne.gov.co/recursos\\_user/documentos/Doc\\_tecnicos/toxicologia\\_glifosato.pdf](http://www.dne.gov.co/recursos_user/documentos/Doc_tecnicos/toxicologia_glifosato.pdf)
- [http://www.presidencia.gov.co/prensa\\_new/sne/2006/diciembre/18/cicadestudiosobreglifosato.pdf](http://www.presidencia.gov.co/prensa_new/sne/2006/diciembre/18/cicadestudiosobreglifosato.pdf)
- <http://www.cetos.org>

- <http://www.indepaz.org.co/myfiles/pdf/060307/cuadroinformfumig.pdf>
- [http://www.unillanos.edu.co/ull\\_inscweb/new\\_portal/docs/Libro\\_Glifosato](http://www.unillanos.edu.co/ull_inscweb/new_portal/docs/Libro_Glifosato)
- [www.ceride.gov.ar/servicios/comunica/canario.htm](http://www.ceride.gov.ar/servicios/comunica/canario.htm)
- [http://webs.chasque.net/~rapaluy1/Glifosato/Impactos\\_Glifosato\\_Medio\\_Ambiente.html](http://webs.chasque.net/~rapaluy1/Glifosato/Impactos_Glifosato_Medio_Ambiente.html)
- [http://www.epa.gov/espp/litstatus/effects/oxyfluorfen/oxyfluorfen\\_analysis.pdf](http://www.epa.gov/espp/litstatus/effects/oxyfluorfen/oxyfluorfen_analysis.pdf)
- <http://www.idealibrary.com>
- [www.accionecologica.org](http://www.accionecologica.org)
- [www.ambienteysdesarrollo.com.ar/faq/Documentos/Ecotoxicologia%20Glifosato.ppt](http://www.ambienteysdesarrollo.com.ar/faq/Documentos/Ecotoxicologia%20Glifosato.ppt)

## ANEXO A.

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 1 de 12 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 24/ 06/ 08 , a las horas 11:00 am
- Fin de la prueba : 26/ 06 /08 , a las horas 11:13am
- Agua de dilución:  
pH:7.32 , Dureza:48 mg CaCO<sub>3</sub>/L, Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0	0
0.2	0	1	2	0			3/20	15
0.3	1	2	3	2	4.8	7.28	8/20	40
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	78,2083333	5	15,6416667	59,2736842	2,77
Dentro de Grupos	4,75	18	0,26388889		
Total	82,9583333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑÉROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 2 de 12 <b>Versión 0</b>

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 24/ 06/ 08 , a las horas 11:15 am
- Fin de la prueba : 26/ 06 /08 , a las horas 11:35am
- Agua de dilución:  
 pH:7.17 , Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0	5	7.24	0	0
0.1	0	0	0	0			0	0
0.2	1	0	2	0			3/20	15
0.3	2	3	1	2			8/20	40
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	78,2083333	5	15,6416667	59,2736842	2.77
Dentro de Grupos	4,75	18	0,26388889		
Total	82,9583333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑÉROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 3 de 12 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 24/ 06/ 08 , a las horas 11:38 am
- Fin de la prueba : 26/ 06 /08 , a las horas 11:56am
- Agua de dilución:  
pH:7.24, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0	4.5	7.2	0	0
0.1	0	0	0	0			0	0
0.2	0	2	0	1			3/20	15
0.3	2	3	3	1			9/20	45
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	79,8333333	5	15,9666667	52,2545455	2.7
Dentro de Grupos	5,5	18	0,30555556		
Total	85,3333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	<b>LB05</b>
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO</b>	<b>Página 4 de 12</b> <b>Versión 0</b>

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

• Inicio de la prueba: 24/ 06/ 08 , a las horas 12:05 pm  
 • Fin de la prueba : 26/ 06 /08 , a las horas 12:20pm  
 • Agua de dilución:  
   pH:7.17, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0	4.5	7.23	0	0
0.1	0	0	0	0			0	0
0.2	1	0	1	0			2/20	10
0.3	3	2	1	3			9/20	45
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	81,2083333	5	16,2416667	77,96	2.77
Dentro de Grupos	3,75	18	0,20833333		
Total	84,9583333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑÉROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	<b>LB05</b>
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO</b>	<b>Página 5 de 12</b> <b>Versión 0</b>

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 24/ 06/ 08 , a las horas 12:18pm
- Fin de la prueba : 26/ 06 /08 , a las horas 12:36pm
- Agua de dilución:  
 pH:7.15, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0	0
0.2	2	0	1	1	4.64	7.22	4/20	20
0.3	1	2	3	2			8/20	40
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,3333333	5	15,4666667	69,6	2.77
Dentro de Grupos	4	18	0,22222222		
Total	81,3333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	<b>LB05</b>
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO</b>	<b>Página 6 de 12</b> <b>Versión 0</b>

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 25/ 06/ 08 , a las horas 11:39 am
- Fin de la prueba : 27/ 06 /08 , a las horas 12:00m
- Agua de dilución:  
pH:7.22, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	1			0	0
0.2	0	1	2	0	5.19	7.23	3/20	15
0.3	3	2	1	1			7/20	35
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77	5	15,4	50,4	2.77
Dentro de Grupos	5,5	18	0,30555556		
Total	82,5	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	<b>LB05</b>
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO</b>	<b>Página 7 de 12</b> <b>Versión 0</b>

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 25/ 06/ 08 , a las horas 11:50 am
- Fin de la prueba : 27/ 06 /08 , a las horas 12:15pm
- Agua de dilución:  
 pH:7.15, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 22/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0/20	0
0.2	1	0	1	0			2/20	10
0.3	2	1	2	1			6/20	30
0.5	5	5	5	5	4.75	7.20	20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	77,3333333	5	15,4666667	139,2	2.77
Dentro de Grupos	2	18	0,11111111		
Total	79,3333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

<b>FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA</b>	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	<b>LB05</b>
<b>LABORATORIO DE BIOENSAYOS</b>	<b>PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO</b>	<b>Página 8 de 12</b>
		<b>Versión 0</b>

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 01/07/ 08 , a las horas 10:15 am
- Fin de la prueba : 03/07 /08 , a las horas 10:15pm
- Agua de dilución:  
pH:7.32, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 29/ 06/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0/20	0
0.2	2	1	1	0			4/20	45
0.3	3	2	3	2			10/20	50
0.5	5	5	5	5	4.8	7.28	20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	80	5	16	144	2.77
Dentro de Grupos	2	18	0,11111111		
Total	82	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 9 de 12 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 01/07/ 08 , a las horas 10:45 am
- Fin de la prueba : 03/07 /08 , a las horas 10:45pm
- Agua de dilución:  
pH:7.17, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 29/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0	5.3	7.24	0/20	0
0.2	0	1	1	1			3/20	15
0.3	2	2	3	2			9/20	45
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	79,8333333	5	15,9666667	191,6	2.77
Dentro de Grupos	1,5	18	0,08333333		
Total	81,3333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá • Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 10 de 12 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 01/07/ 08 , a las horas 10:15 am
- Fin de la prueba : 03/07 /08 , a las horas 10:15pm
- Agua de dilución:  
 pH:7.32, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 29/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0/20	0
0.2	2	1	1	1			5/20	25
0.3	3	2	3	3	4.64	7.22	11/20	55
0.5	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	82,5	5	16,5	198	2.77
Dentro de Grupos	1,5	18	0,08333333		
Total	84	23			

**Elaboro: GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008**

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 11 de 12 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 08/07/ 08 , a las horas 10:15 am
- Fin de la prueba : 10/07 /08 , a las horas 10:15pm
- Agua de dilución:  
pH:7.15, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 29/ 06/ 08


**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0/20	0
0.2	1	1	1	1			4/20	20
0.3	3	4	2	2			11/20	55
0.5	5	5	5	5	4.75	7.20	20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	83,2083333	5	16,6416667	108,927273	2.77
Dentro de Grupos	2,75	18	0,15277778		
Total	85,9583333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑÉROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON DICROMATO DE POTASIO	Página 12 de 12 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 08/07/ 08 , a las horas 10:25 am
- Fin de la prueba : 10/07 /08 , a las horas 10:25pm
- Agua de dilución:  
 pH:7.32, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 29/ 06/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
0.05	0	0	0	0			0	0
0.1	0	0	0	0			0/20	0
0.2	2	3	2	3			10/20	50
0.3	3	3	3	2			11/20	55
0.5	5	5	5	5	5.2	7.45	20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	85,2083333	5	17,0416667	175,285714	2.77
Dentro de Grupos	1,75	18	0,09722222		
Total	86,9583333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

ANEXO B.

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD CON GLIFOSATO ROUNDUP 747	Página 1 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 28/ 08/ 08 , a las horas 10:00 am
- Fin de la prueba : 30/ 08/ 08 , a las horas 10:05am
- Agua de dilución:  
 pH:7.17, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	0	2	1	0			3/20	15
100	3	4	3	4			12/20	60
150	5	5	4	5			17/20	80
200	5	5	5	5			20/20	100
250	5	5	5	5	5.4	7.12	20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	100,833333	5	20,1666667	80,6666667	2.77
Dentro de Grupos	4,5	18	0,25		
Total	105,333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 2 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 28/ 08/ 08 , a las horas 10:15 am
- Fin de la prueba : 30/ 08/ 08 , a las horas 10:20am
- Agua de dilución:  
pH:7.13, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	1	1	1	0			3/20	15
100	3	3	3	4			13/20	65
150	5	5	4	5			17/20	80
200	5	5	5	5	5.4	7.12	20/20	100
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	100,375	5	20,075	160,6	2.77
Dentro de Grupos	2,25	18	0,125		
Total	102,625	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 3 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 28/ 08/ 08 , a las horas 10:25 am
- Fin de la prueba : 30/ 08/ 08 , a las horas 10:30am
- Agua de dilución:  
pH:7.24, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	0	1	1	0			2/20	10
100	3	2	3	3			11/20	65
150	5	4	4	4	5.2	7.12	17/20	90
200	5	5	5	5			20/20	100
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	99,33333333	5	19,8666667	143,04	2.77
Dentro de Grupos	2,5	18	0,13888889		
Total	101,8333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 4 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 28/ 08/ 08 , a las horas 10:35 am
- Fin de la prueba : 30/ 08/ 08 , a las horas 10:40am
- Agua de dilución:  
pH:7.18, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	1	1	1	0			3/20	15
100	3	2	3	4	5.4	7.02	11/20	65
150	4	5	5	4			17/20	90
200	5	5	5	5			20/20	100
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	97,20833333	5	19,4416667	93,32	2.77
Dentro de Grupos	3,75	18	0,20833333		
Total	100,9583333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 5 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA**  
**LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS**  
**REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 30/ 08/ 08 , a las horas 11:00 am
- Fin de la prueba : 01/ 09/ 08 , a las horas 11:00am
- Agua de dilución:  
 pH:7.23, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	0	1	1	0	5.24	7.06	2/20	10
100	2	3	2	3			10/20	55
150	5	4	4	4			17/20	85
200	5	5	5	5			20/20	100
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	99,875	5	19,975	130,745455	2.7
Dentro de Grupos	2,75	18	0,15277778		
Total	102,625	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 6 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 30/ 08/ 08 , a las horas 11:15 am
- Fin de la prueba : 01/ 09/ 08 , a las horas 11:15am
- Agua de dilución:  
pH:7.34, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	0	1	0	0			1/20	5
100	3	4	3	2	5.48	7.23	11/20	60
150	4	3	4	4			15/20	75
200	5	5	4	5			19/20	95
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	95,5	5	19,1	114,6	2.77
Dentro de Grupos	3	18	0,16666667		
Total	98,5	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 7 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 30/ 08/ 08 , a las horas 11:25 am
- Fin de la prueba : 01/ 09/ 08 , a las horas 11:25am
- Agua de dilución:  
pH:7.23, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	0	1	1	0			2/20	15
100	3	2	3	3			11/20	65
150	4	3	4	4	5.24	7.32	15/20	75
200	5	5	5	4			19/20	95
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	90,70833333	5	18,1416667	100,476923	2.77
Dentro de Grupos	3,25	18	0,18055556		
Total	93,95833333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑÉROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 8 de 10 Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 30/ 08/ 08 , a las horas 11:35 am
- Fin de la prueba : 01/ 09/ 08 , a las horas 11:35am
- Agua de dilución:  
pH:7.25, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	1	1	1	0	6.12	7.08	3/20	15
100	3	3	3	3			12/20	60
150	4	3	4	5			16/20	80
200	5	4	5	5			19/20	95
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	84,20833333	5	16,8416667	110,236364	2.77
Dentro de Grupos	2,75	18	0,15277778		
Total	86,95833333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 9 de 10
		Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 30/ 08/ 08 , a las horas 11:45 am
- Fin de la prueba : 01/ 09/ 08 , a las horas 11:45am
- Agua de dilución:  
pH:7.19, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	2	1	0	0			3/20	15
100	3	3	3	3			12/20	60
150	3	3	4	4	5.24	7.32	14/20	70
200	5	5	5	5			20/20	100
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	88,875	5	17,775	85,32	2.77
Dentro de Grupos	3,75	18	0,20833333		
Total	92,625	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA	 <b>UNIVERSIDAD DE LA SALLE</b> Bogotá - Colombia	LB05
LABORATORIO DE BIOENSAYOS	PRUEBA DE TOXICIDAD	Página 10 de 10
		Versión 0

**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y SANITARIA  
LABORATORIO AREA DE BIOENSAYOS  
REGISTRO DE DATOS DEL TEST DE TOXICIDAD AGUDA**

- Inicio de la prueba: 30/ 08/ 08 , a las horas 12:00 m
- Fin de la prueba : 01/ 09/ 08 , a las horas 12:00 m
- Agua de dilución:  
pH:7.37, Dureza: 48 mg CaCO<sub>3</sub>/L , Fecha de Preparación: 20/ 08/ 08

**RESULTADOS**

Concentración nominal	No. de organismos muertos				Medidas finales		No. Observado de muertes / No. Total de organismos	% mortalidad obtenido
	1	2	3	4	OD	pH		
Blanco	0	0	0	0			0	0
50	1	1	0	0			2/20	15
100	3	3	3	3	5.24	7.32	12/20	60
150	4	3	4	4			15/20	75
200	5	4	5	5			19/20	95
250	5	5	5	5			20/20	100
300	5	5	5	5			20/20	100

**ANALISIS DE VARIANZA**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F Calculado	F Teórico
Entre grupos	90,83333333	5	18,1666667	130,8	2.77
Dentro de Grupos	2,5	18	0,1388889		
Total	93,33333333	23			

**Elaboro:** GISELA PIÑEROS Y JAVIER QUINTERO. Bogotá; 2008

## ANEXO C

### 1. IMPACTO DE LAS FUMIGACIONES EN EL ECUADOR

Los efectos de las fumigaciones en territorio ecuatoriano no son hechos aislados de la problemática causada por el glifosato, los campesinos de la región fronteriza han manifestado que las fumigaciones realizadas por varias avionetas, en número de 4 a 6, acompañadas de helicópteros, que durante febrero y marzo de 2001 realizaban fumigaciones de 7 a 12 de la mañana y de 2 a 5 de la tarde, durante 3 días seguidos (Cooperativa Nuevo Mundo).

Otros testimonios hablaban de fumigaciones diarias de 8 a 4 de la tarde, desde diciembre a febrero, y que no eran pocas las noches que fumigaban también en medio de una gran balacera. Las fumigaciones se repetían después de un período de una semana a 15 días (Organización San Francisco).

Los campesinos reportan que poco después de comenzar las fumigaciones, una densa neblina caía sobre sus comunidades dándole un fuerte olor a químicos tanto al aire como al agua que se consumía.

Las organizaciones campesinas reunidas en la autodenominada Unión de Asociaciones, que agrupa a 38 asociaciones de campesinos de Sucumbios y de Orellana, han hecho numerosas denuncias sobre los impactos de las fumigaciones en los cultivos y la salud de las poblaciones fronterizas ecuatorianas. Las respuestas a estas denuncias no tuvieron eco en autoridades locales, provinciales o nacionales. En ninguna de estas comunidades se han presentado responsables de salud, autoridades militares, ni civiles.

El desinterés por esta situación quedó nuevamente reflejado en la reunión del 16 de junio en Lago Agrio, donde los Ministros de Agricultura y Ambiente y las 14 autoridades convocadas, declinaron la invitación de los campesinos. Esta reunión había sido convocada para que los campesinos puedan expresar sus reclamos, denuncias y preocupaciones por lo que estaban viviendo.

Ante esta situación Acción Ecológica, decidió documentar la situación que estaban viviendo las comunidades campesinas de frontera a fin de facilitar el trabajo de la Comisión, visualizar una situación que se mantiene invisible ante la opinión pública y apoyar a las organizaciones de campesinos a que sus denuncias sean escuchadas.

**Se seleccionaron varios grupos de investigación:**

Grupo 1. Cooperativa Nuevo Mundo y Organización San Francisco a menos de 2 Km. de las zonas de fumigación. (15 familias)

Grupo 2. Cooperativa San Miguel y 10 de Agosto a 5 y 6 Km. de la frontera (11 familias)

Grupo 3. Proyecto San Miguel y Perla del Pacífico a 9 y 10 Km. de la frontera (6 familias)

De los resultados obtenidos se desprende el siguiente cuadro

Cuadro I.

Patologías encontradas según la distancia a la fuente de fumigación Durante las fumigaciones							
Distancia a fumigaciones		Grupo 1 (0-2Km.)		Grupo 2 (5 - 6Km.)		Grupo 3 (8-10Km.)	
# de consultas realizadas x comunidad		63		51		28	
# de enfermos encontrados		63	100%	51	100%	25	89%
media de síntomas por persona y rango en cada persona		media 6	rango de 2 a 18	media 5.8	rango de 2 a 12	media 4	rango de 1 a 11
1	Fiebre	40	63.5%	12	23.5%	6	21.4%
2	Diarreas	34	53.9%	10	19.6%	3	10.7%
3	Cefaleas	33	52.4%	33	62.2%	10	35.7%
4	Tos seca	33	52.4%	26	51.0%	9	32.1%
5	Dermatitis	30	47.6%	19	37.2%	6	21.4%
6	Vómitos	25	39.7%	9	17.6%	5	17.8%
7	Irritación Conjuntivas	26	41.6%	20	39.2%	5	17.8%
8	Pérdida de fuerzas, débil.	17	27.9%	15	30.7%	2	7.1%
9	Mareos	15	23.4%	16	31.4%	2	7.1%
10	Lagrimo	15	23.4%	9	17.6%	4	14.2%
11	Dolor Abdominal	14	22.2%	12	24.1%	5	17.8%
12	Granos	8	12.7%	10	19.6%	4	14.2%
13	Alteraciones de la vista	8	12.7%	4	7.8%	5	17.8%
14	insomnio	7	11.1%	9	17.6%	2	7.1%
15	Disnea	7	11.1%	11	21.5%	2	7.1%
16	Salivación	5	7.9%	2	3.9%	1	3.6%
17	Palpitaciones	3	4.7%	2	3.9%	-	

FUENTE: ACCIÓN ECOLÓGICA/SUCUMBIOS-JUNIO 2001.

De lo expuesto podemos deducir que:

El 100% de las personas que habitan a menos de 5 Km. de donde se realizaron fumigaciones con Roundup sufrieron intoxicación aguda

Este porcentaje disminuye ligeramente hasta un 89% cuando se amplía el área a los 10 km. desde la zona de fumigación.

La intensidad de los padecimientos se incrementa en las zonas más próximas a la fumigación. Encontramos un rango de síntomas, para una persona, que oscilan de 2-18 con una media de 6 por persona. A 5 Km. se mantiene la media de 5.8 síntomas por persona pero el rango desciende entre 2-12, para disminuir ligeramente a los 10 Km. a una media de 4 por persona con un rango más estable de 1-11.

A menos de dos kilómetros de la frontera varias escuelas suspendieron las clases. Entre ellas tenemos a la escuela de la Cooperativa Nuevo Mundo con 58 alumnos, y la de Asociación de Campesinos San Francisco 1 con 25 alumnos, que se vieron directamente afectadas.

El síntoma más frecuente en las zonas de fumigación directa es la fiebre (63.5%), indicativo de la presencia en sangre del químico fumigado. Le siguen en frecuencia diarreas, cefaleas y tos, signos claros de que el químico ha penetrado en el organismo por vía oral y respiratoria y que produce efectos sistémicos. Muy próximos están los datos de dermatitis, irritación de conjuntivas y vómitos que confirman la entrada por piel y mucosas del Roundup. En un tercer plano estarán síntomas generales como pérdida de fuerzas, dolores abdominales, mareos, que completan el cuadro, siguiéndole a poca distancia síntomas que completan y acompañan los cuadros patológicos que encabezan la lista.

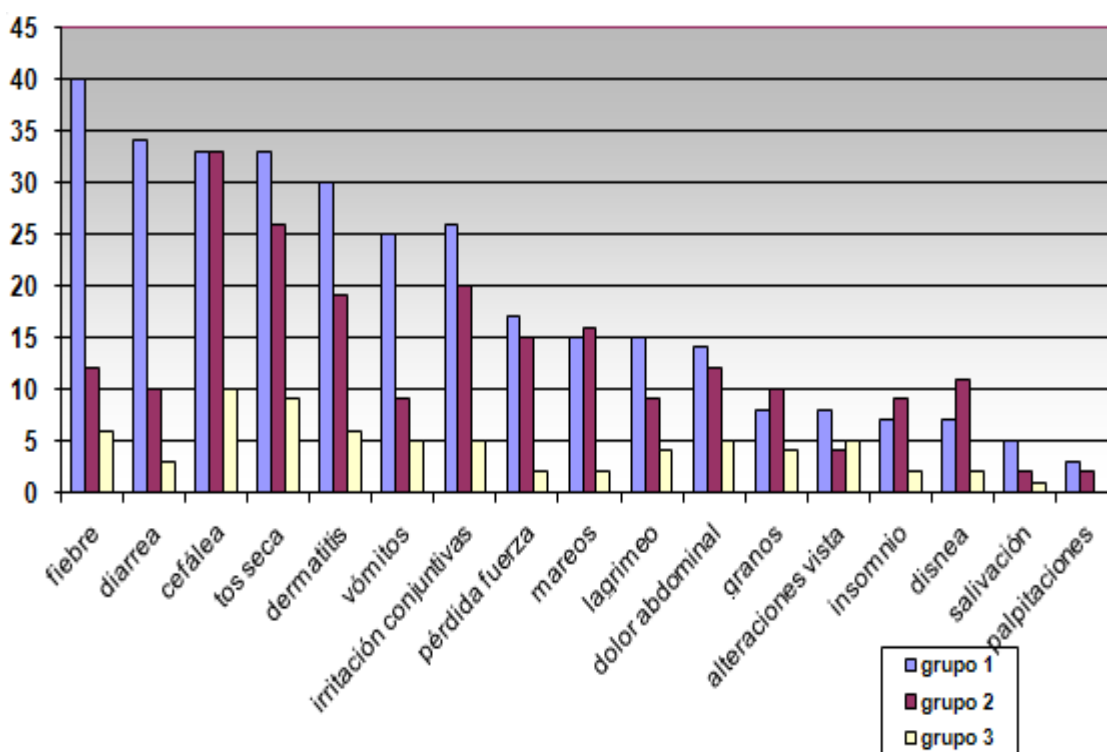
Hay síntomas que mantienen su incidencia alta entre 1 y 5 kilómetros de distancia a las zonas fumigadas (cefaleas, tos e irritación de conjuntivas, debilidad, mareos) lo que parece tener una relación directa con la fuerza de penetración del químico. Otros síntomas (fiebre, diarreas, vómitos) se reducen notablemente con la distancia, casi a la mitad, lo que puede indicar una menor fuerza de penetración por la vía digestiva a distancia. Aunque destaca el hecho de que todas las señales de intoxicación se mantienen hasta los 10 km. con una

En la zona directa de fumigación, al agrupar los síntomas por aparatos, la sintomatología más frecuente es digestiva, esto probablemente se debe al consumo de agua y alimentos contaminados. A muy poca distancia están las afecciones respiratorias y cutáneas. El glifosato entra por cualquiera de esas vías y produce fiebre. Entre 5 a 10 Km. disminuye la entrada por vía digestiva y se mantienen la respiratoria y cutánea que producen síntomas del SNC. A 10 Km.

sigue siendo la vía respiratoria la de entrada (En el cuadro II agrupamos los 36 síntomas en función de órganos y aparatos).

Tres meses después de las fumigaciones, en las zonas más cercanas, 1 de cada 3 pobladores sigue padeciendo síntomas de intoxicación “crónica”. Los síntomas de intoxicación se mantienen en niveles cercanos al 10% en la franja de 5 Km. próxima a la frontera. Los síntomas más frecuentes son los mismos de la intoxicación aguda: Fiebre, cefaleas, irritación de conjuntivas, diarreas, vómitos, con una mayor presencia de enfermedades de la piel.

### FRECUENCIA DE PATOLOGÍAS ENCONTRADAS POR EFECTOS DEL GLIFOSATO SEGÚN LA DISTANCIA A LA FUENTE DE FUMIGACIÓN SUCUMBÍOS/JUNIO 2001



Fuente: Acción Ecológica, 2001

Las seis primeras causas de nuestra lista (fiebre, diarrea, cefaleas, tos seca, dermatitis) coinciden, aunque cambia la frecuencia, con las denunciadas en el Valle del Guamués y San Miguel. Es interesante comparar estos cuadros con el gráfico de frecuencia de síntomas y manifestaciones que recogen las denuncias de los municipios del Valle del Guamués y San Miguel entre enero y febrero del 2001.

**Cuadro II**

<b>Síntomas agrupados por aparatos</b>							
		Grupo 1 (0-2Km.)		Grupo 2 (5-6Km.)		Grupo 3 (8-10Km.)	
1	Digestivo	42	66.6%	23	45.0%	8	28.6%
2	fiebre	40	63.5%	12	23.5%	6	21.4%
3	Respiratorio	39	61.9%	32	62.7%	12	42.8%
4	Piel	39	61.9%	29	56.8%	10	35.7%
5	S.N.C.	37	58.8%	34	66.6%	10	35.7%
6	Ojos	26	41.6%	21	41.1%	6	21.4%
7	Osteo-muscular	21	33.3%	24	47.0%	4	14.3%
8	Corazón	3	4.7%	2	3.9%	-	

**Cuadro III**

<b>Patologías encontradas según la distancia a la fuente de fumigación. 3 meses después de las fumigaciones</b>							
		Grupo 1 (0-2Km.)		Grupo 2 (5-6Km.)		Grupo 3 (8-10Km.)	
# de consultas realizadas x comunidad		63		51		28	
# de enfermos a los 3 meses		23	36.5%	16	31.4%	4	14.2%
1	Dermatitis	8	12.7%	-		1	3.6%
2	Fiebre	6	9.5%	-		-	
3	Cefaleas	6	9.5%	5	9.8%	-	
4	Irritación Conjuntivas	6	9.5%	1	1.9%	-	
5	Diarreas	3	4.7%	1	1.9%	-	
6	Vómitos	3	4.7%	-		-	
7	Insomnio	3	4.7%	1	1.9%	-	
8	Tos seca	2	3.2%	4	7.8%	1	3.6%
9	Pérdida de fuerzas, debil.	1	1.6%	1	1.9%	-	
10	Lagrimo	1	1.6%	-		-	
11	Dolor Abdominal	1	1.6%	2	3.9%	-	
12	Mareos	-		3	5.8%	-	
13	Granos	-		-		2	7.1%
14	Palpitaciones	-		-		-	
15	Alteraciones de la vista	-		-		-	
16	Disnea	-		-		-	

### ¿Qué Hacer?

- Que el gobierno ecuatoriano tome de manera urgente las acciones necesarias para exigir al gobierno colombiano la suspensión inmediata de las fumigaciones en la zona de frontera, y así poder evitar futuros y más graves impactos en Ecuador.
- Iniciar acciones jurídicas a nivel nacional e internacional para el cumplimiento de los derechos fundamentales reconocidos a nivel constitucional y en varios instrumentos internacionales.
- Cuestionar el modelo agrícola basado en la utilización de insumos químicos especialmente de plaguicidas.
- Que la política de los estados de la región presidida por el Ecuador sea la de promover programas de erradicación manual de cultivos calificados como ilícitos, de forma gradual, concertada con la población local y acompañada por programas alternativos de producción.
- Que se forme una Comisión Bilateral con observadores internacionales que rompa la invisibilidad de esta situación y busque respuestas y soluciones.
- Que se prevean los problemas nutricionales de la población en esas zonas y que se corrijan las deficiencias.
- Que se atiendan los problemas sanitarios en la población de frontera.
- Que se atiendan los problemas ocasionados a los cultivos y a los animales de los campesinos, que se cuantifiquen y sean indemnizados por los responsables.
- Que se haga una valoración de la pérdida de diversidad que esta zona de selva ha sufrido por las fumigaciones “descontroladas”.

### Referencias:

La información se basa en el Informe de Elsa Nivia Las Fumigaciones Sí son peligrosas, presentado en la Conferencia “Las Guerras en Colombia: Drogas, armas y petróleo, realizada en la Universidad de California en Davis, en mayo de 2001.

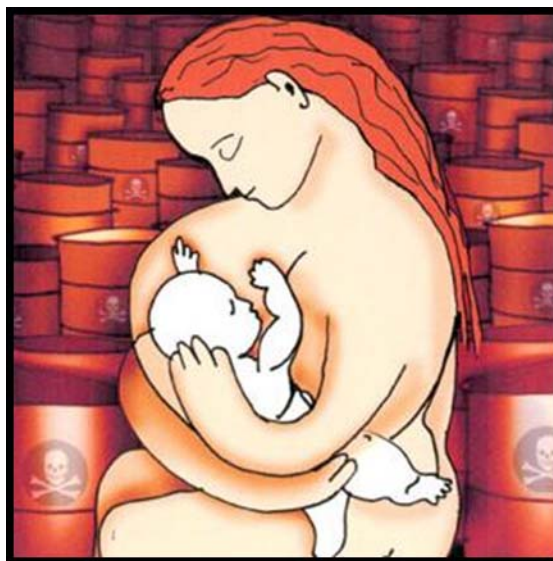
Informe de investigación sobre el Impacto de las Fumigaciones del Putumayo en Ecuador, presentado por Acción Ecológica en junio del 2001

[www.accionecologica.org](http://www.accionecologica.org) (Alerta verde 115 Setiembre 2001)

2. Piden la recategorización de Glifosato: "Alta Peligrosidad"  
13-12-07, Por [Dip. Provincial Santiago Mascheroni \\*](#)

*La Cámara de Diputados de la Provincia de Santa Fe solicita al Poder Ejecutivo de la Provincia que realice gestiones ante el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) y demás reparticiones competentes del Gobierno Nacional, para la recategorización del Glifosato (Gly) en todas sus variantes y denominaciones comerciales como fitosanitario de "Peligrosidad Alta".*

Proyecto de Comunicación



La Cámara de Diputados de la Provincia de Santa Fe solicita al Poder Ejecutivo de la Provincia, que a través de sus áreas correspondientes, realice gestiones ante el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) y demás reparticiones competentes del Gobierno Nacional, a los fines de disponer la recategorización del Glifosato (Gly) en todas sus variantes y denominaciones comerciales, que actualmente está clasificado como "levemente tóxico", como fitosanitario de "Peligrosidad Alta".

*Dip. Provincial Santiago Mascheroni*  
*Expte. N° 19814 D.B*

"Sr. Presidente:

No escapa al conocimiento de todos los legisladores, el uso extendido y generalizado en el agro del fitosanitario (matayuyo) Glifosato, clasificado por las autoridades competentes, como "LEVEMENTE TOXICO".

Como consecuencia de esta calificación, los controles que se realizan en torno a la aplicación de este agrotóxico, casi no existen, lo que pone un manto de duda sobre la salud de las personas expuestas al mismo y sobre la calidad e integridad de los ecosistemas involucrados.

Pese a ello, en los últimos tiempos los medios de comunicación empiezan a reflejar noticias que generan severas sospechas sobre la inocuidad de este producto, entre las que deben destacarse las siguientes:

"JUGANDO CON VENENO": "En el 2003 una comunidad agrícola de Formosa fue afectada por las fumigaciones con Roundup, el biocida de Monsanto. La jueza que entonces frenó dicha avanzada, fue destituida. Mientras, nuevas investigaciones ratifican los efectos nocivos." (1)

"MALFORMACIONES EN SAN CRISTÓBAL": "A principios de agosto el intendente de San Cristóbal alertó sobre la presencia de reiterados y preocupantes nacimientos de bebés con malformaciones congénitas. Las declaraciones circularon por todos los medios de comunicación nacionales y provinciales. Según, Edgardo Martino, en el primer semestre de este año 11 chiquitos nacieron con estas patologías. De este modo, se determinaron 8 casos de nacimientos no normales, de los cuales 3 bebés fallecieron y los otros viven con malformaciones, registrándose además otros 3 casos similares en localidades vecinas." (2)

"LA ONU CREE HAY RAZONES PARA ESTUDIAR FUMIGACIONES". La ONU considera que existen 'razones suficientes' para hacer un estudio sobre los efectos en Ecuador de la fumigación aérea con el herbicida Glifosato. (3)

"EN ENTRE RÍOS INVESTIGAN LA MUERTE DE TRES NIÑOS": PARANA.- Son los Portillo, viven prácticamente aislados cerca del arroyo Las Masitas, paraje rural al sur de Rosario del Tala, en el centro de Entre Ríos. Tres primos de 2, 7 y 8 años fallecieron de meningitis y de leucemia en los últimos tres años, uno de ellos hace una semana, otra prima de 18 meses también fue internada por un cuadro grave, aunque recibió el alta en las últimas horas. Mariángeles Rodríguez, una de las madres, pidió que se investiguen las causas de la muerte, sospecha de la calidad del agua y del uso de agroquímicos en la zona. (4)

"EN MALABRIGO HUBO DOCE CASOS DE MALFORMACIONES". "El pediatra del Samco local los relacionó con el extendido uso en la zona del Glifosato, un pesticida muy cuestionado". (5)

GLIFOSATO USADO CAUSA CANCER: "El herbicida sería la causa de algunos tipos de cáncer, aseguró el científico francés Robert Bellé en una entrevista publicada en Ecuador. El vicepresidente de Ecuador, Lenin Moreno, sostuvo que hay pruebas de que (el Glifosato) ha generado "cáncer y alteraciones del código genético" en pobladores ecuatorianos. Tales modificaciones aumentan la posibilidad de que los hijos de los afectados nazcan con "malformaciones intelectuales o físicas". (6)

ESTUDIO CIENTÍFICO EN PUEBLOS DE LA PAMPA HÚMEDA: Vinculan cáncer y malformaciones con exposición a contaminantes ambientales. Un grupo

transdisciplinario relevó 6 pueblos de la pampa húmeda y encontró, en principio, relaciones causales de casos de cáncer y malformaciones uro genitales masculinas entre los habitantes expuestos a factores de contaminación ambiental como lo son agroquímicos. El estudio –preliminar, pero que enciende una luz de alerta– es llevado a cabo por profesionales del Centro de Investigaciones en Biodiversidad y Ambiente (Ecosur), del Hospital Italiano Garibaldi de Rosario, la UNR, el INTA, el Colegio de Ingenieros Agrónomos, y la Federación Agraria Argentina. (7)

**NUEVAS PRUEBAS DEL PELIGRO DEL HERBICIDA ROUNDUP:** Estudios revelaron que Roundup, el herbicida más usado del mundo, puede provocar daños a la salud humana y animal. Es mucho lo que está en juego, porque más de 75 % de los cultivos transgénicos en el mundo fueron diseñados para tolerar el Glifosato, el principio activo de Roundup. Este herbicida de Monsanto ostenta la mayor porción del mercado.

"Un grupo de científicos encabezados por el bioquímico Gilles-Eric Seralini, de la Universidad de Caen (Francia), descubrió que las células de placenta humana son muy sensibles a Roundup en concentraciones inferiores a las utilizadas en la agricultura. Seralini y su equipo decidieron profundizar en los efectos del herbicida sobre la placenta humana después que un estudio epidemiológico en la provincia canadiense de Ontario demostrara que la exposición al Glifosato casi duplica el riesgo de abortos espontáneos en gestaciones avanzadas.

El equipo halló que dosis muy bajas de Glifosato provocaban efectos tóxicos en células placentarias humanas, y dosis aún más bajas causaban trastornos endocrinos. El estudio demostró que el Glifosato mata una gran proporción de esas células después de dieciocho horas de exposición a concentraciones menores que en el uso agrícola. Esto podría explicar la gran incidencia de partos prematuros y abortos espontáneos en mujeres agricultoras de Estados Unidos que usan Glifosato, señalaron los investigadores.

Asimismo, advirtieron que, sus residuos pueden entrar en la cadena alimentaria, y además se han descubierto como contaminantes de cursos fluviales. Aunque Roundup y productos similares están dirigidos a combatir la maleza, "se han transformado en un producto alimenticio, porque se utilizan sobre cultivos transgénicos que pueden absorberlos sin morir", dijo Seralini al diario francés *Le Monde*." (8)

**ADVIERTEN SOBRE LA ALTA TOXICIDAD DEL HERBICIDA MÁS USADO DEL PAÍS:** "Un informe de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR advierte sobre la existencia de estudios toxicológicos recientes que indican que el Glifosato, una sustancia que se utiliza para formular herbicidas, fue "erróneamente catalogado como toxicológicamente benigno, tanto a nivel sanitario como ambiental. El bioquímico Federico Paggi indicó que "recientes estudios toxicológicos conducidos por instituciones científicas independientes parecen indicar que el Glifosato fue erróneamente calificado como toxicológicamente benigno", y por ende "los herbicidas en base a glifosato pueden ser altamente tóxicos para animales y humanos". Paggi explicó que "la revisión toxicológica del glifosato conducida por un equipo norteamericano de científicos independientes

(Northwest Coalition for Alternatives to Pesticides) indicó efectos adversos en todas las categorías estándar de toxicología: subcrónicos, crónicos, carcinogénicos, mutagénicos y reproductivos". (9)

"TOXICOLOGÍA DEL GLIFOSATO: RIESGOS PARA LA SALUD HUMANA": "Todo producto pesticida contiene, además del ingrediente "activo", otras sustancias cuya función es facilitar su manejo o aumentar su eficacia. Estos ingredientes, engañosamente denominados "inertes", no son especificados en las etiquetas del producto. En el caso de los herbicidas con glifosato, se han identificado muchos ingredientes "inertes". Para ayudar al glifosato a penetrar los tejidos de la planta, la mayoría de sus fórmulas comerciales incluye una sustancia química surfactante. Por tanto, las características toxicológicas de los productos de mercado son diferentes a las del glifosato solo. La lista de ingredientes inertes identificados en diferentes fórmulas comerciales en base a glifosato se acompaña con una descripción clásica de sus síntomas de toxicidad aguda. Los efectos de cada sustancia corresponden, en algunos casos, a síntomas constatados en el laboratorio mediante pruebas toxicológicas a altas dosis. La mayoría de síntomas se compiló a partir de informes elaborados por los fabricantes de las diferentes fórmulas.

- Sulfato de amonio: Irritación ocular, náusea, diarrea, reacciones alérgicas respiratorias. Daño ocular irreversible en exposición prolongada.
- Benzisotiazolona: eccema, irritación dérmica, fotorreacción alérgica en individuos sensibles.
- 3-yodo-2-propinilbutilcarbamato: Irritación ocular severa, mayor frecuencia de aborto, alergia cutánea.
- Isobutano: náusea, depresión del sistema nervioso, disnea.
- Metil pirrolidinona: Irritación ocular severa. Aborto y bajo peso al nacer en animales de laboratorio.
- Acido pelargónico: Irritación ocular y dérmica severas, irritación del tracto respiratorio.
- Polioxietileno-amina (POEA): Ulceración ocular, lesiones cutáneas (eritema, inflamación, exudación, ulceración), náusea, diarrea.
- **Hidróxido de potasio: Lesiones oculares irreversibles, ulceraciones cutáneas profundas, ulceraciones severas del tracto digestivo, irritación severa del tracto respiratorio.**

- Sulfito sódico: Irritación ocular y dérmica severas concomitantes con vómitos y diarrea, alergia cutánea, reacciones alérgicas severas.
- Ácido sórbico: Irritación cutánea, náusea, vómito, neumonitis química, angina, reacciones alérgicas.
- Isopropilamina: Sustancia extremadamente cáustica de membranas mucosas y tejidos de tracto respiratorio superior. Lagrimeo, coriza, laringitis, cefalea, náusea.

**TOXICIDAD Y EFECTOS INDESEABLES:** Toxicidad aguda: La Agencia de Protección Medioambiental (EPA) ya reclasificó los plaguicidas que contienen glifosato como clase II, altamente tóxicos, por ser irritantes de los ojos. La Organización Mundial de la Salud, sin embargo, describe efectos más serios; en varios estudios con conejos, los calificó como "fuertemente" o "extremadamente" irritantes. El ingrediente activo (glifosato) está clasificado como extremadamente tóxico (categoría I).



Las fórmulas conteniendo glifosato producen mayor toxicidad aguda que el glifosato solo. La cantidad de Round-Up (glifosato + POEA) requerida para ocasionar la muerte de ratas es tres veces menor que la de glifosato puro. En cuanto a las formas de exposición, la toxicidad de ambas presentaciones (glifosato puro, fórmulas compuestas) es mayor en casos de exposición dérmica e inhalatoria (exposición ocupacional) que en casos de ingestión.

En humanos, los síntomas de envenenamiento incluyen irritaciones dérmicas y oculares, náuseas y mareos, edema pulmonar, descenso de la presión sanguínea, reacciones alérgicas, dolor abdominal, pérdida masiva de líquido gastrointestinal, vómito, pérdida de conciencia, destrucción de glóbulos rojos, electrocardiogramas anormales y daño o falla renal." (10)

Evidentemente que toda esta información, quizás en algunos aspectos muy técnicos, debería hacer encender la alarma sobre el tema, reclamando que a la luz de ella, los organismos sanitarios del Estado se expresen en forma categórica y tomen los recaudos necesarios en protección de la salud común.

Que lo propuesto en el presente es coincidente con la preocupación evidenciada por distintas organizaciones ambientales del país y en particular con los lineamientos de la campaña "Paren de Fumigar" de la Red Nacional de Acción Ecologista (Renace).

Por las razones expuestas se solicita a los Sres. Diputados prestar su aprobación a la presente iniciativa". [www.ecoportal.net](http://www.ecoportal.net)

#### Referencias:

- 1.- [www.redeco.com.ar](http://www.redeco.com.ar): 6 de setiembre de 2005- Año VII - N° 70 .
- 2.- Diario "Castellanos", Rafaela, 05-09-05.
- 3.- Nacional, Ecuador-Colombia: 25-02-2006.
- 4.- La Nación, 25 de Enero de 2007.
- 5.- Diario "UNO", Santa Fe, 15 de Marzo de 2007.
- 6.- El Mercurio, Ecuador, 26-2-07 [www.elmercurio.com.ec](http://www.elmercurio.com.ec) .
- 7.- Federación Agraria Argentina INFORME SEMANAL N° 197, 29 –12- 2005.
- 8.- Revista del Sur - N° 160 - abril-junio 2005, Chee Yoke Heong.
- 9.- Blanco, Luis Emilio, Diario "La Capital, 24 de diciembre de 2006.
- 10.- Kaczewer, Jorge, Universidad Nacional de Buenos Aires

### **3. EL GLIFOSATO PROVOCA LAS PRIMERAS ETAPAS DEL CÁNCER** **31-03-07, POR MÓNICA ALMEIDA \***

*Una vez más quedan al descubierto las mentiras y la contaminación de Monsanto. El glifosato es usado ampliamente en las fumigaciones aéreas de Ecuador y Colombia, y también es usado en nuestro país, tanto en los cultivos transgénicos como convencionales, causando efectos irreversibles en la salud y en el medio ambiente.*



Una vez más quedan al descubierto las mentiras y la contaminación de Monsanto. El glifosato es usado ampliamente en las fumigaciones aéreas de Ecuador y Colombia, y también es usado en nuestro país, tanto en los cultivos transgénicos como convencionales, causando efectos irreversibles en la salud y en el medio ambiente.

De acuerdo a las cifras dadas por el departamento de control de insumos, dependencia del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, el aumento de las importaciones de herbicidas ha superado el 300% en los últimos años. Aumento dominado básicamente por el glifosato debido a las extensiones de los grandes monocultivos de soja transgénica.

Robert Bellé director de un proyecto del Centro Nacional de la Investigación Científica de la Universidad Pierre y Marie Curie, de Francia en una entrevista realizada por Mónica Almeida habla sobre los efectos del glifosato.

"El glifosato formulado es el que provoca las primeras etapas de la cancerización", dijo a El Universo Robert Bellé, científico francés que dirigió una investigación sobre el Roundup, producto utilizado en las fumigaciones que realiza Colombia en la frontera con Ecuador, cuyo principal componente es el glifosato. Bellé afirmó que la aspersión aérea de este químico es "una locura".

A fines de enero pasado, la multinacional Monsanto fue condenada en Francia por publicidad engañosa sobre su producto Roundup. La razón, según el diario francés Liberation, fue " porque el uso del término biodegradable no era adecuado". Si bien la Comisión Europea lo clasifica como "tóxico para los organismos acuáticos" y que puede "acarrear efectos nefastos para el ambiente a largo plazo". Un equipo de investigadores franceses demostró que, además, el "glifosato formulado provoca las primeras etapas de la cancerización en las células".

Robert Bellé explicó el peligro del glifosato formulado para que actúe como herbicida y cuando se le habló de las fumigaciones aéreas en la frontera entre Colombia y Ecuador las consideró "una locura". El profesor Robert Bellé (ahora de 60 años de edad) dirigió entonces este grupo de cinco personas de la Unidad Mar y Salud, en la Estación Biológica de Roscoff (Bretaña), como parte de un proyecto del Centro Nacional de la Investigación Científica (CNRS, por sus siglas en francés) y la Universidad Pierre y Marie Curie. Los resultados del proyecto, que comenzó en 1998, se publicaron en la revista científica internacional Toxicological Sciences (Nº 82), en el 2004.

-¿Cuándo y cómo comenzó su investigación sobre el Roundup?

El Roundup vino por accidente. El programa se inició en 1998 para medir si algunos productos usados en la agricultura eran peligrosos para la salud. Mi equipo es especialista en células y división celular, y esto nos serviría también para comparar con otras sustancias y establecer un modelo de uso industrial. Era necesario tener dos controles: los positivos, de los productos supuestamente cancerígenos, y los negativos, que son sustancias cercanas a las investigadas pero que no tienen ningún efecto. Y nos dijimos, tontamente como lo hace todo el mundo, hay un herbicida que podemos comprar en la tienda de la esquina, el Roundup, y lo tomamos como control negativo. En las pruebas nos dio resultados inesperados, creímos que había un error, pero luego vimos sus efectos.

-¿Cuáles fueron los resultados de la investigación?

-El glifosato formulado, lo que significa el Roundup tal como es vendido, activa lo que se llama el checkpoint (proteínas de control). Cada célula tiene dos checkpoints que se activan solo cuando hay problemas en la división celular. Esta perturbación se debe a que interactúa con el ADN de las células y de esa manera es como funcionan los agentes cancerígenos.

Una vez activado el checkpoint hay tres posibilidades: la primera es que la célula repare el ADN; la segunda, que haga apoptosis o suicidio celular; y la tercera, que ni se reparen ni se mueran porque el gen que se daña es uno de los que regula el checkpoint y es así como se inicia el proceso del cáncer. Si hay 10.000 células,

9.999 se mueren, pero si hay una que vive y tiene el ADN dañado, que corresponde al gen del checkpoint, y se divide, en media hora ya hay dos, que luego se convierten en 4, 8, 16. Para llegar al cáncer todavía faltan otros cambios, es necesario que una de ellas adquiera la propiedad de escapar del control de un factor externo a la célula. El proceso continúa, el tumor necesitará oxígeno y para eso va a atraer vasos sanguíneos y formar nuevos (angiogénesis) para alimentarse. La última característica es la migración (metástasis) y entonces se formarán tumores en el resto del cuerpo.

-¿El glifosato provoca el primer mecanismo que activa el checkpoint y es necesariamente cancerígeno?

-El glifosato formulado es el que provoca las primeras etapas de la cancerización. Un cáncer se define cuando hay señales clínicas de la enfermedad, y mientras solo exista una célula que camina hacia ese proceso no se puede hablar de cáncer todavía. Sobre todo nos cuidamos mucho en el plano jurídico porque el fabricante no impugnó nuestros resultados, que son a prueba de impugnación, pero sí cuestionó su interpretación ya que hasta el momento no se ha presentado un cáncer por el glifosato y si lo hay no lo sabemos. Para tener un cáncer tienen que pasar entre 30 y 35 años. El glifosato y otros productos se están usando desde hace mucho menos tiempo, entre 10 y 15 años, por lo que aún es imposible medir los casos.

-¿Qué dijo Monsanto?

-Fuimos muy honestos, antes de difundir nuestros resultados en el mundo científico se los dimos a Monsanto, en el 2001, diciéndoles: "Cuidado con su producto, tienen un problema". Nos contestaron que no era posible, que el producto ya estaba registrado y nos pidieron que les demos el lote utilizado en la investigación. Ya habíamos probado con varios lotes y sabíamos que ese no era el problema. Las relaciones se deterioraron muy rápidamente.

Luego impugnaron todo, por ejemplo, el modelo experimental, y cuestionaron el uso de células de embriones de erizos de mar, lo que nunca ha sido reconocido como material experimental por instancias oficiales de la toxicología. Les respondí que el argumento no era válido porque el repertorio de la toxicología corresponde al estudio de células ya cancerígenas, mientras que esta investigación era sobre la activación del proceso de cancerización. Después dijeron que no se podían extrapolar los resultados obtenidos con los erizos al ser humano; les explicamos que todas las células del planeta tienen el mismo origen y que el mecanismo más universal es la división celular. A fines del 2001 se premió con el Nobel de Medicina a Leland Hartwell, Paul Nurse y Timothy Hunt por sus trabajos sobre el cáncer con levaduras y erizos de mar. Y desde ahí ya no pudieron usar este argumento.

Estamos seguros de que el glifosato juega un papel importante pero es necesario la fórmula para que se active, porque el producto solo no es un herbicida. Las pruebas para obtener los registros (sanitarios) se hacen producto por producto, entonces es normal que las pase.

Pero es extraño que el Roundup siga vendiéndose y su uso sea muy popular. Si a usted le parece extraño a nosotros todavía más. Hice gestiones ante los poderes públicos franceses, en nuestro caso la Universidad y el CNRS, para que transmitieran la información a las autoridades. Para mi gran sorpresa, me enviaron a alguien desde París a cuestionar los resultados y me pidieron no hablar con la prensa. Fue alrededor del 2002, antes de publicar el artículo en la revista científica.

Argumentaron que no había que alarmar a la población y que quizás los resultados no eran definitivos. A raíz del artículo hubo algunas noticias en los medios, pero la gente aún no toma conciencia. Después me di cuenta que esto se relaciona con los transgénicos y los intereses económicos son muy grandes. Si Monsanto nos pone un juicio, el CNRS no tendría recursos para enfrentarlo.

-Nos interesa el tema porque Colombia realiza fumigaciones aéreas en la frontera para destruir plantaciones de coca y asegura que son inofensivas.

-No es verdad. El problema es que cuando se pulveriza en avionetas o hasta con un atomizador manual, la mezcla es cien veces más concentrada que aquella que puede desregular el funcionamiento de la célula. Cada microgota puede tocar miles de células simplemente cuando las respiramos, y si esas microgotas son pulverizadas en avión pueden viajar cientos de kilómetros. Cuando se fumiga en un jardín, las gotas pueden recorrer entre 2 y 3 km, si hay viento. Monsanto recomienda no fumigar cuando hay viento, pero es imposible porque siempre hay viento. También recomienda el uso de máscara, encauchado, botas y guantes. El que fumiga está protegido, pero los que están a 500 mts. no lo están.

Una fumigación aérea es otra cosa. Es una catástrofe. Se ha demostrado que hay arena del Sahara en el Polo Norte, y un grano de arena es más grande y pesado que una microgota. Las microgotas de pulverización son casi como el vapor de agua, que viajan simplemente con el movimiento de la tierra, como las nubes. Es una locura pulverizar con avión. En las fumigaciones aéreas que se realizan acá se mezcla el glifosato con coadyuvantes para mejorar su acción. El ingrediente principal del Roundup es el POEA (polyethoxy tallow amine) y tiene dos funciones: aumentar la superficie de acción de la gota que cae en la hoja de una planta y hacer que el producto entre en la célula. Nunca pudimos saber la fórmula exacta del Roundup, entonces tomamos varios productos que contenían glifosato y fabricados por distintas firmas, por lo que era poco probable que tuvieran la misma composición. Constatamos que todos tenían el mismo efecto. Así, no es un

producto que por casualidad se mezcla con el glifosato, sino que es la fórmula que se hace para que ingrese en las células la que termina afectándolas. Si algún día hay que quitar el glifosato del planeta será imposible.

-¿Cuál es la relación con los transgénicos?

-Casi todos los transgénicos que se producen y venden en el mundo pueden ser categorizados en dos grupos: los que producen un insecticida para el maíz y los que son resistentes al Roundup (que al ser fumigados con el Roundup no mueren). Como esta investigación llega a tener relación con los transgénicos me advirtieron de no difundirla porque la sociedad aún no los acepta y esto podría crear más resistencia. Es grave que se quiera esconder los resultados por defender a los transgénicos. Soy muy prudente, yo he tenido hasta amenazas en mi casa, y me he dicho "El mundo científico ya conoce los resultados, el gran público los está conociendo y mi trabajo como científico ha terminado, ahora, como ciudadano, es hora de que los poderes públicos tomen la posta".

Fuente:[http://www.ecoportal.net/layout/set/print/content/view/full/67940/\(printversion\)/1\(31-03-07, Por Mónica Almeida \\*\)](http://www.ecoportal.net/layout/set/print/content/view/full/67940/(printversion)/1(31-03-07, Por Mónica Almeida *))

[Robert Bechtle](#) Selling and acquiring works by Robert Bechtle  
[www.novakart.com](http://www.novakart.com)

#### 4. INQUIETANTES EFECTOS DEL ROUNDUP EN LOS SERES HUMANOS Y EL AMBIENTE *Por Chee Yoke Heong*

Deseamos que presten atención a dos estudios realizados recientemente sobre el herbicida Roundup producido por Monsanto, y sus efectos en seres humanos y animales.

El Roundup, con su ingrediente activo glifosato, ha sido considerado durante largo tiempo como un producto seguro para los seres humanos y el ambiente, a la vez de efectivo para la eliminación de malezas. Se utiliza ampliamente junto a los cultivos transgénicos tolerantes a glifosato porque elimina todas las demás plantas salvo los cultivos transgénicos, que son manipulados genéticamente justamente para ser tolerantes al glifosato.

Sin embargo, como indican nuevas investigaciones, el Roundup también es peligroso para otras formas de vida y organismos (Nota 1).

El biólogo de la Universidad de Pittsburg, Rick Relyea, descubrió que el Roundup es “muy letal” para los anfibios. Considerado uno de los estudios más amplios sobre los efectos de plaguicidas en organismos no atacados por el producto, en un entorno natural, los resultados de Relyea revelaron que el Roundup provocó una disminución del 70 por ciento en la biodiversidad anfibia y del 86 por ciento en la cantidad total de renacuajos.

En otro estudio, un grupo de científicos dirigidos por Gilles-Eric Seralini, de la Universidad de Caen, Francia (Nota 2 y Nota 3) descubrió que las células de la placenta humana son muy sensibles al Roundup en concentraciones menores a las de uso agrícola. Esto, señalan, podría explicar los elevados índices de nacimientos prematuros y abortos observados entre mujeres agricultoras de los Estados Unidos que utilizan glifosato.

Hay poderosos intereses en juego, porque el uso de glifosato es inherente al de las plantas modificadas genéticamente, concebidas específicamente para “tolerar” ese ingrediente activo.

Es por esos efectos alarmantes en los seres humanos y el ambiente que aconsejamos tener cautela en cuanto a la adopción de los cultivos transgénicos tolerantes a glifosato y el uso asociado del herbicida Roundup.

-----

*Nota 1*

**El Roundup es altamente letal para los anfibios, revela investigador de la  
Universidad de Pittsburgh**

Comunicado público de fecha 1 de abril de 2005

Pittsburgh - El herbicida Roundup es ampliamente utilizado para la erradicación de malezas. Pero un estudio publicado hoy por un investigador de la Universidad de Pittsburgh revela que el producto químico puede estar erradicando mucho más que eso.

El profesor adjunto de Biología, Rick Relyea, de Pittsburgh, descubrió que el Roundup, el segundo herbicida más comúnmente aplicado en los Estados Unidos, es "altamente letal" para anfibios. Este experimento de campo es uno de los estudios de mayor alcance sobre los efectos de plaguicidas en organismos no atacados por el producto, en un entorno natural. Los resultados pueden constituir un vínculo clave de la disminución mundial de anfibios.

En la investigación titulada "The Impact of Insecticides and Herbicides on the Biodiversity and Productivity of Aquatic Communities" (El impacto de insecticidas y herbicidas en la biodiversidad y productividad de las comunidades acuáticas), publicado en el periódico Ecological Applications, Relyea examinó las respuestas de toda la comunidad de un estanque –25 especies, incluidos crustáceos, insectos, caracoles y renacuajos– a las dosis recomendadas de dos insecticidas –Sevin (carbaryl) y malatión– y dos herbicidas –Roundup (glifosato) y 2,4-D.

Relyea descubrió que el Roundup provocó una disminución de la diversidad de anfibios del 70 por ciento y una reducción del 86 por ciento en el número total de renacuajos. Los renacuajos de las especies Rana pipiens y rana arbórea gris (Hyla versicolor) fueron exterminados por completo y los renacuajos de Rana sylvatica y de sapo casi desaparecieron. Una especie de rana, Pseudacris crucifer, no resultó afectada.

"Lo más alarmante que surgió de todo esto fue que el Roundup, concebido para eliminar plantas, resultó altamente letal para anfibios", dijo Relyea, quien dirigió la investigación en el Laboratorio Pymatuning de Ecología, en Pittsburgh. "Agregamos Roundup y al día siguiente, cuando observamos los tanques, había renacuajos muertos en todo el fondo".

Relyea inició el experimento para estudiar si el Roundup tenía un efecto indirecto en las ranas al exterminar su fuente de alimento, las algas. Pero descubrió que el

Roundup, si bien es un herbicida, en realidad aumentó la cantidad de algas en el estanque porque mató a la mayoría de las ranas.

“Es como matar a todas las vacas de un campo y comprobar que el campo tiene más pasto, no porque uno hubiera logrado que el creciera mejor, sino porque mató a todo lo que lo come”, explicó.

Investigaciones previas habían revelado que el ingrediente letal del Roundup no es el herbicida en sí, el glifosato, sino más bien el surfactante o detergente que favorece la penetración del herbicida en la superficie cerosa de las plantas. En el Roundup, ese surfactante es un producto químico llamado polyethoxylated tallowamine. Otros herbicidas tienen surfactantes menos peligrosos; por ejemplo, el estudio de Relyea reveló que el 2,4-D no provocó efectos en los renacuajos.

“Repetimos el experimento, así que tenemos confianza que se trata, de hecho, de un resultado reiterable”, dijo Relyea. “Es justo decir que nadie había pensado que el Roundup fuera tan letal para los anfibios”.

-----

## Nota 2

### COMUNICADO DE PRENSA

El grupo del Profesor Gilles-Eric Seralini, de la Universidad de Caen (Normandía, Francia) acaba de publicar resultados originales relativos a la toxicidad del Roundup. Es uno de los herbicidas más utilizados en todo el mundo y el más utilizado con plantas modificadas genéticamente (transgénicas).

La mayoría de los transgénicos comercializados en el mundo están diseñados para alimentación humana y animal. Esas plantas han sido modificadas para permanecer vivas después de haber absorbido el herbicida que se aplica sobre los cultivos.

Eso facilita mucho su uso, pero también la presencia de residuos del herbicida en la cadena alimenticia. Se lo reconoce además como un contaminante comúnmente presente en los ríos.

En este trabajo se demuestra que las células placentarias humanas son muy sensibles al Roundup, en concentraciones por debajo de las utilizadas en la agricultura. Esto podría explicar los abortos y nacimientos prematuros experimentados por trabajadoras rurales de los Estados Unidos. Además, por debajo de los niveles tóxicos, los efectos del Roundup se miden por la síntesis de las hormonas sexuales; esto permite clasificar a este herbicida como posible

disruptor o perturbador endócrino. Por último, los efectos del Roundup son siempre mayores que los del glifosato, conocido como su componente activo.

Este trabajo fue apoyado en especial por CRIIGEN ([www.crii-gen.org](http://www.crii-gen.org)) y por la organización "Fondation pour une Terre Humaine".

*Contacto: Pr. Gilles-Eric SERALINI, tel. 33 2 31 56 54 89, [criigen@ibfa.unicaen.fr](mailto:criigen@ibfa.unicaen.fr)  
Environmental Health Perspective*

- Efectos diferenciados del glifosato y el Roundup en células placentarias humanas y en la aromatasa.

*Sophie Richard, Safa Moslemi, Herbert Sipahutar, Nora Benachour, Gilles-Eric Seralini doi:10.1289/ehp.7728 (disponible en <http://dx.doi.org/>)*

Febrero de 2005

## Resumen

El Roundup es un herbicida basado en el glifosato, utilizado en todo el mundo, incluso en la mayoría de las plantas modificadas genéticamente, las cuales pueden tolerarlo. Sus residuos pueden entrar de esa forma en la cadena alimenticia y se ha detectado contaminación por glifosato en los ríos. Algunas trabajadoras rurales que utilizan glifosato presentan problemas en el embarazo, si bien se cuestiona el mecanismo de acción de este compuesto en los mamíferos. En esta investigación demostramos que el glifosato es tóxico para las células JEG3 placentarias humanas dentro de las 18hs de su aplicación, en concentraciones menores a las utilizadas en la agricultura; este efecto aumenta con la concentración y el tiempo de exposición, o en presencia de compuestos potenciadores del Roundup. Asombrosamente, el Roundup siempre es más tóxico que su ingrediente activo. Comprobamos su efecto en la aromatasa, la enzima responsable de la síntesis de los estrógenos, en concentraciones más bajas no tóxicas. El herbicida actúa como disruptor endócrino de la actividad de la aromatasa y de los niveles de mRNA, y el glifosato interactúa con la región activa de la enzima purificada, pero en microsomas o en cultivos celulares la formulación del Roundup favorece esos efectos. Concluimos que es posible observar efectos endócrinos y tóxicos del Roundup y no solamente de glifosato en mamíferos. Sugerimos que la presencia de potenciadores del Roundup aumenta la disponibilidad biológica y/o la bioacumulación de glifosato.

-----

*Nota 3*

**El Roundup no envenena solamente malezas**

Por Herve Morin Le Monde, 12 de marzo de 2005

[http://www.truthout.org/issues\\_05/032805HB.shtml](http://www.truthout.org/issues_05/032805HB.shtml)

El herbicida más utilizado en el mundo, el Roundup de Monsanto, y sus competidores, que están formulados -al igual que el Roundup- sobre una base de glifosato, han tenido una larga reputación de inocuidad para la salud humana y el medio ambiente. Sin embargo, diversos estudios recientes parecen indicar que este ingrediente activo, utilizado por agricultores así como por servicios de paseos públicos y jardineros, podría no ser tan inofensivo como aducen sus promotores. Hay grandes intereses detrás, porque la utilización de glifosato aumenta junto con la de los organismos modificados genéticamente, la gran mayoría de los cuales han sido concebidos específicamente para “tolerar” este ingrediente activo, letal para las plantas.

De hecho, si bien el Roundup y otros productos similares fueron utilizados originalmente para combatir malezas, “se han convertido en productos alimenticios, ya que son utilizados en transgénicos, que pueden absorberlos sin ser destruidos”, sostiene el bioquímico Gilles-Eric Seralini. Miembro durante años de la Comisión Francesa de Genética Biomolecular, responsable de la preparación de los archivos para las solicitudes de estudios de campo, luego de la comercialización de transgénicos, incesantemente exige estudios más profundos sobre sus posibles impactos en la salud.

Miembro también de Criigen, una asociación que ha hecho del control de los transgénicos su pasión, ha orientado su propia investigación al estudio del impacto del glifosato. En un artículo publicado el 24 de febrero en el periódico estadounidense *Environmental Health Perspective* (Perspectiva de la Salud Ambiental), el bioquímico y su equipo de la Universidad de Caen demuestran, in vitro, varios efectos tóxicos de este compuesto así como de los aditivos asociados al mismo que cumplen la función de facilitar su difusión.

Para su estudio, los investigadores utilizaron líneas de células de placenta humana en las cuales se aplicó una dosis muy débil de glifosato, que mostró efectos tóxicos y, aún en concentraciones muy débiles, alteraciones endócrinas. Esto, para Gilles-Eric Seralini, podría explicar los altos niveles de nacimientos prematuros y abortos observados en ciertos estudios epidemiológicos -que, no obstante, son controvertidos- que abarcan a mujeres agricultoras que utilizan glifosato. “El efecto que hemos observado es proporcional a la dosis, pero también al tiempo de exposición”, subraya.

Su equipo también ha estudiado los efectos comparativos del glifosato y el Roundup y ha observado que el producto comercial es más perjudicial que su principal ingrediente activo aislado. “Por consiguiente, la evaluación de herbicidas debe tomar en cuenta la combinación con aditivos del producto”, expresa.

Gilles-Eric Seralini reconoce que su estudio debe ser ampliado con experimentos en animales. Pero rechaza las críticas que ha recibido sobre la ausencia de un vínculo real entre la utilización in vitro y la normal. “Los agricultores diluyen el producto puro y están expuestos a dosis 10.000 veces más fuertes”, insiste. “Nuestros resultados demuestran que hay que tener en cuenta el periodo de exposición”.

*Fuente: Red del Tercer Mundo*

*[http://www.redtercermundo.org.uy/texto\\_completo.php?id=2717](http://www.redtercermundo.org.uy/texto_completo.php?id=2717)*

*Fecha: Lunes 18 de Abril de 2005*

**5. SEIS PUEBLOS DE LA PAMPA HÚMEDA, ARGENTINA, CON MALFORMACIONES Y NIVELES DE CÁNCER SUPERIORES AL NORMAL POR EL USO DE LOS AGROTÓXICOS**  
**18-05-08, Por Darío Aranda**

*Una investigación del Hospital Italiano de Rosario confirmó los efectos en la salud de los agrotóxicos en los pueblos sojeros. Malformaciones, cáncer y problemas reproductivos tienen vinculación directa con el uso y la exposición a contaminantes ambientales, entre ellos los agrotóxicos utilizados en los agronegocios.*

Malformaciones, cáncer y problemas reproductivos tienen vinculación directa con el uso y la exposición a contaminantes ambientales, entre ellos los agrotóxicos utilizados en los agronegocios. “Los hallazgos fueron contundentes en cuanto a los efectos de los pesticidas y solventes”, afirma Alejandro Oliva, médico y coordinador de la investigación que abarcó seis pueblos de la Pampa Húmeda y que confirma, en esas localidades, la existencia de diferentes tipos de cánceres – de próstata, testículo, ovario, hígado, páncreas, pulmón y mamas– muy por encima de la media nacional. El estudio también detalla que cuatro de cada diez hombres que consultaron por infertilidad habían sido expuestos a químicos agropecuarios y alerta que el efecto sanitario de los agrotóxicos puede manifestarse en las generaciones futuras. “Hijos o nietos de los trabajadores rurales, y las poblaciones cercanas, son los que dentro de décadas pueden sufrir las consecuencias”, advierte la investigación.

El estudio fue realizado entre 2004 y 2007 por un equipo del Hospital Italiano de Rosario, conducido por Oliva, con el respaldo del Centro de Investigaciones en Biodiversidad y Ambiente (Ecosur), la Universidad Nacional de Rosario, la

Federación Agraria local y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). La hipótesis de estudio del grupo multidisciplinario (conformado por ecólogos, epidemiólogos, agrónomos, endocrinólogos y sociólogos) señalaba que ciertos agroquímicos podrían perturbar la fisiología hormonal. El relevamiento en terreno confirmó que las funciones reproductivas, tanto femeninas como masculinas, son altamente sensitivas a diferentes agentes químicos utilizados en la actividad agrícola. “Existen relaciones causales de casos de cáncer y malformaciones infantiles entre los habitantes expuestos a factores de contaminación ambiental, como los agroquímicos”, afirma el trabajo, realizado por etapas durante tres años y cuyos resultados finales acaban de ser publicados en los Cuadernos de Salud Pública de Brasil.

La investigación remarca que los factores ambientales, como la exposición a pesticidas y solventes, contribuyen a la severidad de la infertilidad y pueden empeorar los efectos de factores genéticos preexistentes. El relevamiento constata que el 40 por ciento de los hombres que consultaron por infertilidad habían sido expuestos a agrotóxicos y resalta que el sistema reproductivo masculino puede padecer severas alteraciones debido a causas ambientales, entre las que se destaca un aumento del cáncer de testículo, malformaciones urogenitales, disminución en la calidad seminal y disfunción eréctil.

La investigación recuerda que toda la zona se fumigó por años con “organoclorados” (como se denomina a productos como DDT, heptacloro, lindano y HCH), que de 1960 a 1978 tuvieron amplia difusión junto a los “organofosforados”, como el Parathion. Del '78 al '94 la tendencia introdujo nuevos químicos, como monocrotofos, endosulfán y piretroides. Y desde el '94 se aplicaron estos dos últimos más el clorpirifós. “Sin olvidar la rotunda aparición del glifosato y sus agregados”, recuerda el científico. Justamente las organizaciones campesinas e indígenas acumulan denuncias contra ese producto, cuyo nombre comercial es Roundup, de la estadounidense Monsanto, el agrotóxico más utilizado en la agricultura actual. Sólo en el último año, y a razón de diez litros de glifosato por hectárea, las tierras más productivas de Argentina fueron rociadas con 165 millones de litros del cuestionado veneno. “Según cifras de la FAO, Argentina ha aumentado en más de un 200 por ciento el uso de agroquímicos, principalmente en la Pampa Húmeda, debido a los herbicidas que se utilizan en la soja transgénicas”, explica la investigación.

El grupo de profesionales remarca que la incidencia del cáncer en áreas rurales es menor que en las zonas urbanas, pero en su estudio detectaron lo opuesto: que algunos tipos de cánceres se encuentran con mayor incidencia en el mundo agrícola, tal es el caso de los linfomas no-Hodgkin y los de próstata, asociados con la fabricación y el empleo de agroquímicos. También sobresalen los cánceres de testículo y ovario, mostrando una incidencia tres veces mayor en el primer caso, y de casi dos veces en el segundo, comparados con las estimaciones a nivel nacional. Los cánceres de hígado fueron casi diez veces más y los de páncreas y

pulmón, el doble de lo esperado. En cuanto a la mujer, se registra un aumento significativo de cáncer de mama. También sobresalieron los cánceres de tipo digestivo. “Esto puede ser por haber sido estas zonas muy expuestas a los clorados, y ahora son zonas expuestas al glifosato, que sabemos produce irritaciones digestivas permanentes”, explican.

En un apartado especial se explica que el efecto de los agrotóxicos puede manifestarse mediante dos mecanismos: el contacto directo con la sustancia o que los padres la hayan absorbido y transmitido a través de sus espermatozoides y óvulos a los hijos. “En diferentes publicaciones se ha demostrado la existencia de casos de cáncer con pacientes que no habían estado expuestos directamente a los agroquímicos, pero si lo habían sido sus padres o sus abuelos. Se produce cuando el químico impacta en la trama genética y se va reproduciendo de generación en generación. O bien pasa a través del útero de la madre”, afirma Oliva. Y advierte: “En materia de salud pública, se está comprometiendo en forma directa a varias generaciones”.

Además del uso de agroquímicos, se señaló como fuentes fijas de contaminación a las plantas de acopio de cereales, los depósitos de plaguicidas, los lugares donde se lavan y guardan los equipos de fumigaciones, basurales y transformadores con PCB. El relevamiento demostró que más del 90 por ciento de los casos de cáncer se encontraron dentro de los 300 metros de esos focos contaminantes.

El trabajo tomó como muestra de estudio áreas consideradas representativas del modelo de agronegocios predominante en la Pampa Húmeda: localidades rurales de hasta cinco mil habitantes, regiones donde la soja abarca el 95 por ciento de la tierra cultivable y con antecedentes de haber estado dedicadas a la producción agropecuaria al menos desde la década de 1950. Se trata de Pérez Millán, en el norte bonaerense, y Alcorta, Carreras, Máximo Paz, Santa Teresa y Bigand, todas localidades de Santa Fe.

Justamente en Bigand, el Ministerio de Salud de Nación realizó un estudio con el objetivo de “determinar factores de vulnerabilidad en poblaciones expuestas a los plaguicidas”. En el marco del Plan Nacional de Gestión Ambiental, con intervención de la Cátedra de Toxicología y Química de la UBA, las conclusiones detallaron: “Más de la mitad de los encuestados y el 100 por ciento de los fumigadores refieren que ellos o conocidos estuvieron intoxicados alguna vez. El 90 por ciento señala que no existen personas resistentes a las intoxicaciones”. El trabajo confirma efectos agudos como alergias, dolor de cabeza, mareos, irritación respiratoria, dérmica y de ojos. En el aspecto laboral, precisa que los trabajadores “en su inmensa mayoría no tienen contrato de trabajo, ni cobertura médica, y cobran a destajo”. “Son mencionados más de 40 pesticidas, predominando el uso de glifosato”, remarca el relevamiento. La fecha de publicación fue 2002. Nunca más el Ministerio de Salud difundió información sobre los agrotóxicos.

## 6. NUEVAS SECUELAS DEL GLIFOSATO

La evidencia de daños en las branquias y el hígado de cachamas fue uno de los primeros resultados que, sobre la acción tóxica de concentraciones de glifosato en peces, obtuvo el grupo de investigación en Toxicología Acuática y Ambiental de la UN. Ahora los investigadores hallaron que el herbicida también afecta los sistemas nervioso y respiratorio de los peces. Resultados similares obtuvieron con otro herbicida peligroso: el paraquat.

Más de 325 nombres comerciales de herbicidas para contrarrestar malezas en el campo (rastreo, pastos indeseables y cultivos ilícitos, entre otros) aumentan cada vez más sus ventas en el país. En medio de este comercio, se habla muy poco sobre su acción en los ecosistemas que, aunque silenciosamente, se va agudizando con el tiempo.

Al menos, así lo han podido comprobar investigadores del Laboratorio de Toxicología Acuática de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, que, preocupados ante el ostensible aumento de ventas de paraquat en Colombia, y ante el posible efecto tóxico del glifosato en los recursos ambientales del país, han hecho experimentos que comprueban una vez más los efectos nocivos de los herbicidas. Su posible toxicidad se probó con cuatro especies de peces.

Las cifras hablan por sí solas. Pese a que el paraquat, herbicida utilizado en agricultura para combatir malezas, está incluido en la lista de los doce pesticidas más tóxicos del mundo, la conocida “docena sucia”, su venta en lugar de disminuir se ha triplicado en los últimos años. De 678 toneladas, en el 2003, se pasó a 1900, en el 2005. Las estadísticas se actualizan cada dos años, así que las del 2006 y el 2007 están por salir.

“De este herbicida, con el que se fumigaron los cultivos de marihuana en la Sierra Nevada de Santa Marta durante los años 70, se conoce su extrema toxicidad sobre plantas y animales. Aun así, apenas se ha restringido su aplicación por aspersión”, asegura el profesor Jaime Fernando González, director del grupo de Toxicología Acuática y Ambiental, que analizó la acción del paraquat en el pez cachama blanca.

En la investigación, varios ejemplares de cachama, que es la especie nativa de mayor producción en Colombia y la más comercializada en los Llanos Orientales, fueron expuestos a concentraciones letales y no letales de paraquat, en acuarios experimentales.

“Luego de 96 horas, las membranas de los peces, constituidas principalmente por lípidos, empezaron a deteriorarse, como reacción al compuesto químico que las fue oxidando. Al ir perdiendo su integridad se altera el equilibrio a lado y lado de las membranas. El paso siguiente a la oxidación es la muerte celular”, asegura el profesor González.

Estos resultados corroboran los resultados de estudios realizados por otros científicos con biomodelos animales, terrestres y acuáticos. Inclusive, algunos señalan efectos tóxicos en seres humanos que han estado expuestos al herbicida.



*Foto 1. Yamu en necropsia.*



*Foto 2. Branquias oscuras por glifosato.*

### ***El progresivo efecto del glifosato***

Para comprobar que tan inocuo o tóxico es realmente el glifosato, herbicida polémico por ser el elegido para erradicar los cultivos ilícitos en Colombia, los investigadores experimentaron su acción en cuatro especies de peces de gran importancia en acuicultura.

La tilapia, un pez de origen africano que en las especies foráneas ocupa el primer lugar en producción; el yamú, con poca fuerza en el mercado, pero con grandes cualidades nutricionales; el bocachico del Magdalena, ad portas de la extinción, y la cachama blanca, especie que en el primer experimento, realizado hace un año, sufrió daños severos en branquias e hígado. El estudio, apoyado por la Fundación Internacional para la Ciencia, IFS, organismo sueco que promueve la investigación en países en vía de desarrollo, ha tenido como objetivo observar lo que le ocurre a una especie animal, en este caso, peces, cuando se expone aguda y crónicamente a concentraciones bajas de herbicidas, como sucede en las zonas de fumigación. En este nuevo estudio los peces fueron expuestos durante 96 horas a concentraciones subletales, entre 10 y 30 partes por millón, de glifosato en su forma comercial, Roundup®, y a concentraciones altas, entre 45 y 90 partes por millón.

Las dos especies más susceptibles a la acción del químico, aun en concentraciones bajas, fueron el bocachico y el yamú, que registraron altas mortalidades. La tilapia fue la especie más resistente, pues solo murió cuando estuvo en contacto con las concentraciones más altas.

Antes de que los animales murieran manifestaron signos nerviosos y dificultad respiratoria. Según el profesor González, “al estar en el fondo, algunos peces subían con rapidez a la superficie, como queriendo salir del acuario. A veces nadaban sobre su eje o, si estaban en la superficie, se dejaban caer pesadamente al fondo”.

Al observar el comportamiento de la enzima acetilcolinesterasa, presente en el tejido nervioso, la sangre y el plasma, entre otros, los investigadores notaron que

bajaba o aumentaba repentinamente su actividad. Ante los impulsos, esta enzima es la encargada de hacer que las células nerviosas entren en un estado de reposo. Si no fuera así, el organismo se agotaría. “Observamos que el glifosato, tanto en concentraciones bajas como altas, alteraba la enzima y llevaban a que la transmisión de impulsos fuera continua, de ahí los síntomas nerviosos de los peces”.

Estos mismos cambios en la enzima colinesterasa fueron corroborados en experimentos de 17 días de duración, en cachama blanca y tilapia roja expuestas a 5 partes por millón del herbicida.

Otro cambio importante ocurrió en la respiración de los animales, pues la mayoría buscaba oxígeno en la superficie del acuario. Lo que más llamó la atención fue que la sangre de los peces se tornaba oscura. Al respecto, el director del Laboratorio comenta: “Notamos que el Roundup® causa oxidación en el hierro de la hemoglobina, fenómeno conocido como estado de metahemoglobina o sangre achocolatada, que lleva a que el individuo no pueda captar oxígeno y respirar adecuadamente”.

El Roundup®, al igual que el paraquat, indujo la oxidación de los lípidos de las membranas celulares, que ocasiona la muerte de las células.

Es necesario aclarar que los experimentos se hicieron con un glifosato cuyos surfactantes, químicos que le permiten adherirse y actuar sobre la maleza, son menos tóxicos que los utilizados para fumigar los cultivos ilícitos. El profesor González subraya que aunque estos resultados se circunscriben a los peces, y por lo tanto sería prematuro extrapolarlos a otras especies, hay que tener en cuenta que enzimas como la acetilcolinesterasa y los cambios en la hemoglobina también podrían presentarse en organismos superiores, como los animales terrestres, incluido el ser humano.

**Fuente.** Laboratorio de Toxicología Acuática de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia.

Página en internet. <http://unperiodico.unal.edu.co/ediciones/109/13.html>

## ANEXO D.

## ANEXO E

## ANEXO F.



Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial  
Viceministerio de Agua y Saneamiento  
República de Colombia

Bogotá, D.C

Señores  
UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria  
Ciudad

Respetados señores

Cordial saludo, por medio de la presente me permito dar conocimiento de la visita de los estudiante Gisela Piñeros Rojas con Cedula de Ciudadanía 40325987 y Javier Alberto Quintero con Cedula de Ciudadanía 83238169, al Grupo de Política y Planificación Sectorial del Viceministerio de Agua y Saneamiento del Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial; con el motivo de recopilar información para el desarrollo de su tesis de grado titulada "Determinación de la concentración media (CL<sub>50</sub>) del glifosato Roundup 747<sub>SG</sub> ((NH<sub>4</sub>)C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>P) por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*.

Cordialmente,

JOSÉ SEVERO GONZÁLEZ  
Asesor Viceministerio de Agua y Saneamiento

Calle 37 No.8-40 • Bogotá, D.C. • Teléfono +57 – 1 – 332 3434, extensiones 2311  
Fax: +57 – 1 – 332 3400 extensión 2454 Página Internet:  
[www.minambiente.gov.co](http://www.minambiente.gov.co)

## ANEXO G.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
Vicerrectoría Académica  
Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

FIAS-1670

Bogotá, 3 de septiembre de 2008

Mayor  
ANTONIO TUJANO VILLARRAGA  
Policía Nacional  
Ciudad

Respetado Mayor Tujano:

Cordial saludo. Me permito presentarles a las estudiantes de la Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria GISELA PIÑEROS ROJAS código estudiantil 41012113 y JAVIER ALBERTO QUINTERO código estudiantil 41021163, quienes conociendo su compromiso ambiental y sus labores de alto desempeño respetuosamente desean su autorización, para obtener información sobre Glifosato, con el fin de realizar su trabajo de grado titulado "Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del glifosato Roundup 747 sg ((NH<sub>4</sub>)C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>P), por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia Pulex*"

Cabe señalar, que la realización de este proyecto estará bajo la orientación del Ingeniero Pedro Miguel Escobar, director.

Agradezco el apoyo y la ayuda que Ustedes puedan brindarle a los estudiantes; por nuestra parte, la Facultad apoyará en todo momento las actividades programadas para el buen desarrollo del proyecto.

Cordialmente,

JOSE ANTONIO GALINDO MARTINEZ  
Secretario Académico

Adriana

Carrera 2a. No. 10 70 - bloque A piso 6 - Pbx: 353 5360 ext.: 2514 y 2515 - Directo: 341 4169  
Fax: 336 2840 - E-mail: [jambient@lasalle.edu.co](mailto:jambient@lasalle.edu.co) [seciamb@lasalle.edu.co](mailto:seciamb@lasalle.edu.co)

## ANEXO H.



UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
Vicerrectoría Académica  
Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Bogotá, 4 de Septiembre de 2008

Señor  
Fabián Duque Bernal  
Gerente  
CMTA SERVIPRES  
Ciudad

Cordial saludo:

Por medio de la presente me dirijo a usted con el fin de solicitar la disposición final de los residuos de glifosato Roundup 747<sub>SG</sub>, generados durante el desarrollo del proyecto de investigación "Determinación de la concentración media (CL<sub>50</sub>) del glifosato Roundup 747<sub>SG</sub> ((NH<sub>4</sub>)C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>5</sub>P) por medio de bioensayos de toxicidad acuática sobre *Daphnia pulex*." Realizados por los tesisistas Gisela Piñeros y Javier Quintero de la facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle.

Agradezco la atención y colaboración

Atentamente

Pedro Miguel Malaver

## ANEXO I.