



## Anexos

### Anexo A. Plaguicidas utilizados en el cultivo de piña en el Caribe y Zona Norte de Costa Rica

Plaguicidas	Cantidad aplicada en cultivos de piña por año (kg ia/ha/año)	Ecotoxicidad en invertebrados acuáticos
Ametrina	2 a 3	Peligroso
Bromacil	2 a 3	Medianamente peligroso
Diuron	2 a 3	Peligroso
Glifosato	0 a 1	Peligroso
Benfuracarb	7 a 8	Altamente peligroso
Carbaril	3 a 4	Altamente peligroso
Diazinón	4 a 5	Altamente peligroso
Etoprofos	8 a 10	Peligroso

*Nota:* Elaboración propia (2020) con datos de [Ramírez, 2017](#) y [University of Hertfordshire, 2019](#).



## Anexo B. Determinación del herbicida con mayor puntaje para ser utilizado en los bioensayos

Indicadores	Ametrina			Bromacil			Diuron			Cifosato			
	Dato	Clasificación	Puntaje	Dato	Clasificación	Puntaje	Dato	Clasificación	Puntaje	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente
Cantidad importada por año (ton/a)	198,7	Altamente peligroso	4	198,7	Altamente peligroso	4	418,6	Extremadamente peligroso	5	1371,9	Extremadamente peligroso	5	C
	< 50 = Ligeramente peligroso 50 - 150 = Peligroso 150 - 400 = Altamente peligroso > 400 = Extremadamente peligroso												
Cantidad aplicada en cultivos de piña por año (kg/ha/año)	2 a 3	Mediamente peligroso	2	2 a 3	Mediamente peligroso	2	2 a 3	Mediamente peligroso	2	0 a 1	Ligeramente peligroso	1	C
	0 - 1 = Ligeramente peligroso 1 - 3 = Mediamente peligroso 3 - 4 = Peligroso 4 - 5 = Altamente peligroso > 5 = Extremadamente peligroso												
Solubilidad en agua (20°C) (mg/L)	200	Peligroso	3	815	Altamente peligroso	4	35,6	Mediamente peligroso	2	10500	Extremadamente peligroso	5	A
	<= 50 = Mediamente peligroso 50 - 500 = Peligroso 500 - 1000 = Altamente peligroso > 1000 = Extremadamente peligroso												
Coeficiente de reparto octanol-agua (en pH 7, 20°C) (LogP)	2,63	Mediamente peligroso	2	1,88	Mediamente peligroso	2	2,87	Peligroso	3	-3,2	Mediamente peligroso	2	A
	< 2,7 = Mediamente peligroso 2,7 - 3,0 = Peligroso 3,0 = Altamente peligroso												
Volatilidad 20°C (mPa)	0,365	Mediamente peligroso	2	0,041	Mediamente peligroso	2	0,00115	Mediamente peligroso	2	0,0131	Mediamente peligroso	2	A
	< 5,0 = Mediamente peligroso 5,0 - 10,0 = Peligroso > 10,0 = Altamente peligroso												



Indicadores	Ametrina			Bromacil			Diuron			Cifosato		
	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente
Persistencia en suelo (días)	37	Peligroso	3	A	60	Peligroso	3	A	146,6	Altamente peligroso	4	A
		< 30 = Ligeramente peligroso 30 - 100 = Peligroso 100 - 365 = Altamente Extremadamente peligroso										
Persistencia en agua (días)	28	Peligroso	3	B	30	Peligroso	3	B	8,8	Medianamente peligroso	2	A
		< 1 = Ligeramente peligroso 1 - 14 = Medianamente peligroso 14 - 30 = Peligroso > 30 = Altamente peligroso										
Ecotoxicidad en invertebrados acuáticos (agudos 48 h LC <sub>50</sub> (mg/L))	28	Peligroso	3	A	119	Medianamente peligroso	2	A	5,7	Peligroso	3	A
		> 100 = Medianamente peligroso 0,1 - 100 = Peligroso < 0,1 = Altamente peligroso										
Sumatoria			22				22				23	

**Nota:** La fuente de cada dato se indica con una letra como se especifica seguidamente: (A) University of Hertfordshire, 2019; (B) Pesticide Action Network, 2020; (C) Ramírez, 2017; (D) IRET, 2020.  
 Fuente propia de la investigación.



### Anexo C. Determinación del insecticida con mayor puntaje para ser utilizado en los bioensayos

Indicadores	Benfuracarb				Carbaril				Diazinon				Etoprofos			
	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente
Cantidad importada por año (ton/a)	59,3	Peligroso	3	C	71	Peligroso	3	C	718,6	Extremadamente peligroso	5	C	217,2	Altamente peligroso	4	C
Cantidad aplicada en cultivos de piña por año (kg/ha/año)	7 a 8	Extremadamente peligroso	5	C	3 a 4	Peligroso	3	C	4 a 5	Altamente peligroso	4	C	8 a 10	Extremadamente peligroso	5	C
Solubilidad en agua (20°C) (mg/L)	8,4	Mediamente peligroso	2	A	9,1	Mediamente peligroso	2	A	60	Peligroso	3	A	1.300	Extremadamente peligroso	5	A
Coefficiente de reparto octanol-agua (en pH 7, 20°C) (LogP)	4,22	Altamente peligroso	4	A	2,36	Mediamente peligroso	2	A	3,69	Altamente peligroso	4	A	2,99	Peligroso	3	A
Volatilidad 20°C (mPa)	0,0042	Mediamente peligroso	2	A	0,0416	Mediamente peligroso	2	A	11,97	Altamente peligroso	4	A	78	Altamente peligroso	4	A
Persistencia en suelo (días)	0,5	Ligeramente peligroso	1	A	16	Ligeramente peligroso	1	A	9,1	Ligeramente peligroso	1	A	13,6	Ligeramente peligroso	1	A



Indicadores	Rangos de clasificación	Benfuracarb			Carbaril			Diazinon			Etoprofos						
		Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente	Dato	Clasificación	Puntaje	Fuente				
Persistencia en agua (días)	<1 = Ligeramente peligroso 1 - 14 = Medianamente peligroso 14 - 30 = Peligroso >30 = Altamente peligroso	-	Ligeramente peligroso	1	D	3,1	Medianamente peligroso	2	A	4,3	Medianamente peligroso	2	A	20	Peligroso	3	A
Ecotoxicidad en invertebrados acuáticos (Agudos 48 h LC <sub>50</sub> (mg/L))	>100 = Medianamente peligroso 0,1 - 100 = Peligroso <0,1 = Altamente peligroso	0,01	Altamente peligroso	4	A	0,0064	Altamente peligroso	4	A	0,001	Altamente peligroso	4	A	0,2	Peligroso	3	A
Sumatoria				22				19				27				28	

**Nota:** La fuente de cada dato se indica con una letra como se especifica seguidamente: (A) University of Hertfordshire, 2019; (B) Pesticide Action Network, 2020; (C) Ramírez, 2017; (D) IRET, 2020.

Fuente: Propia de la investigación.



#### Anexo D. Composición del medio de cultivo para hidras, utilizado como control negativo y agua de dilución

Reactivos	En 20,00 litros
Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	2,94 g
Ácido N-tris [hidroximetil] metil 1-2- aminoetanosulfónico (TES)	2,20 g
Ácido etilendiamintetraacético (EDTA)	0,08 g
Hidróxido de sodio (NaOH 1N)	Agregar por gotas hasta alcanzar pH 7,00.
Agua Milli-Q®	Hasta aforar en botellón de 20,00 L.

*Nota:* Fuente: Adaptado de [Trottier et al., 1997](#).



## Anexo E. Cambios morfológicos ocurridos a la *Hydra attenuata* en ensayos de toxicidad aguda con dos plaguicidas y la mezcla de estos

Ensayo	Diuron			Etoprofos			Mezcla (diuron - etoprofos)		
	24 h	48 h	Concentración	24 h	48 h	Concentración	24 h	48 h	Concentración
1	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra
	5N, 4S	7N, 1B, 1S	Control solvente 1150,00 mg/L (32,00 % acetona)	7N, 2B	7N, 2B	Control solvente 1060,00 mg/L (0,80 % acetona)	7N, 2B	7N, 2B	Control solvente 1150,00 mg/L
	9N	2N, 2B, 5S	Control (+) 0,00006 mg/L Cr <sup>-6</sup> 3,13 mg/L	6N, 3B	2N, 5B, 2S	Control (+) 0,00006 mg/L Cr <sup>-6</sup> 9,09 mg/L	6N, 3B	2N, 5B, 2S	Etoprofos: 1060,00 mg/L Control (+) 0,00006 mg/L Cr <sup>-6</sup>
	8N, 1S	4N, 3B, 2S		9N	8N, 1B		9N	8N, 1B	Diuron: 0,53 mg/L Etoprofos: 3,22 mg/L
	4N, 4B, 1S	2N, 3B, 2S, 1T, 1D	6,25 mg/L	9N	7N, 2B	18,18 mg/L	9N	7N, 2B	Diuron: 1,05 mg/L Etoprofos: 6,44 mg/L
	1N, 3B, 4S, 1T	1B, 7S, 1T	12,50 mg/L	9N	1N, 8B	36,37 mg/L	9N	5N, 4B	Diuron: 2,11 mg/L Etoprofos: 12,88 mg/L
	1S, 5T, 3D	1S, 1T, 7D	25,00 mg/L	9B	4B, 5S	72,73 mg/L	9B	5N, 4B	Diuron: 4,21 mg/L Etoprofos: 25,75 mg/L
	7T, 2D	2T, 7D	50,00 mg/L	6S, 1T, 2D	2T, 7D	145,46 mg/L	6S, 1T, 2D	8B, 1S	Diuron: 8,42 mg/L Etoprofos: 51,51 mg/L
	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra
	6N, 2B, 1S	7N, 1B, 1S	Control solvente 1150,00 mg/L (32,00 % acetona)	7N, 2B	3N, 6B	Control solvente 1060,00 mg/L (0,80 % acetona)	7N, 2B	3N, 6B	Control solvente 1150,00 mg/L
9N	2N, 7S	Control (+) 0,00006 mg/L Cr <sup>-6</sup> 3,13 mg/L	7N, 2B	4N, 5B	Control (+) 0,00006 mg/L Cr <sup>-6</sup> 9,11 mg/L	7N, 2B	4N, 5B	Etoprofos: 1060,00 mg/L Control (+) 0,00006 mg/L Cr <sup>-6</sup>	
9N	7N, 1B, 1T		9N	8N, 1B		9N	8N, 1B	Diuron: 0,53 mg/L Etoprofos: 3,22 mg/L	
4N, 5B	3N, 4B, 2S	6,25 mg/L	9N	7N, 2B	18,23 mg/L	9N	5N, 4B	Diuron: 1,05 mg/L Etoprofos: 6,44 mg/L	
3B, 6S	9S	12,50 mg/L	9N	2N, 7B	36,46 mg/L	9N	4N, 5B	Diuron: 2,11 mg/L Etoprofos: 12,88 mg/L	
1S, 7T, 1D	1S, 2T, 6D	25,00 mg/L	9B	6B, 3S	72,92 mg/L	9B	2N, 7B	Diuron: 4,21 mg/L Etoprofos: 25,75 mg/L	
1S, 5T, 3D	1T, 8D	50,00 mg/L	8S, 1D	3T, 6D	145,84 mg/L	8S, 1D	7B, 2S	Diuron: 8,42 mg/L Etoprofos: 51,51 mg/L	



Ensayo	Diuron			Etoprofos			Mezcla (diuron - etoprofos)		
	Concentración	24 h	48 h	Concentración	24 h	48 h	Concentración	24 h	48 h
3	Control (-) 100,00 % medio hidra Control solvente 1150,00 mg/L (32,00 % acetona) Control (+) 0,000006 mg/L Cr <sup>+6</sup> 3,09 mg/L 6,18 mg/L 12,36 mg/L 24,73 mg/L 49,46 mg/L	9N 4N, 5B 9N 9N 5N, 4B 3N, 4B, 2S 1B, 1S, 7T 3T, 6D	9N 7N, 2B 4N, 4B, 1S 7N, 2B 2N, 2B, 5S 2B, 5S, 2T 1S, 8T 9D	Control (-) 100,00 % medio hidra Control solvente 1060,00 mg/L (0,80 % acetona) Control (+) 0,000006 mg/L Cr <sup>+6</sup> 9,11 mg/L 18,22 mg/L 36,44 mg/L 72,88 mg/L 145,75 mg/L	9N 5N, 1B, 3S 7N, 2B 9N 9N 9N 9B 2T, 7D	9N 3N, 6B 3B, 6S 7N, 2B 6N, 3B 2N, 7B 5B, 4S 9D	Control (-) 100,00 % medio hidra Control solvente Diuron: 1150,00 mg/L Etoprofos: 1060,00 mg/L Control (+) 0,000006 mg/L Cr <sup>+6</sup> Diuron: 0,53 mg/L Etoprofos: 3,22 mg/L Diuron: 1,05 mg/L Etoprofos: 6,44 mg/L Diuron: 2,11 mg/L Etoprofos: 12,88 mg/L Diuron: 4,21 mg/L Etoprofos: 25,75 mg/L Diuron: 8,42 mg/L Etoprofos: 51,51 mg/L	9N 5N, 4B 6N, 3B 6N, 3B 5N, 4B 5N, 4B 2N, 7B 2N, 7B 7B, 2S 4B, 5S	

*Nota:* N = hidra normal; B = hidra con tentáculos abastionados; S = hidra con tentáculos acortados; T = hidra en estado de tulipán; D = hidra desintegrada.  
 Fuente: Propia de la investigación.





## Anexo F. Cambios morfológicos ocurridos a la *Hydra viridis* en ensayos de toxicidad aguda con dos plaguicidas y la mezcla de estos

Ensayo	Diuiron		Etoprofos		Mezcla (diuiron - etoprofos)	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1	Concentración		Concentración		Concentración	
	Control (-)	9N	Control (-)	9N	Control (-)	9N
	100,00 % medio hidra		100,00 % medio hidra		100,00 % medio hidra	
	Control solvente	9N	Control solvente	9N	Control solvente	9N
	1150,00 mg/L		1060,00 mg/L		Diuiron: 1150,00 mg/L	
	(32,00 % acetona)		(0,80 % acetona)		Etoprofos: 1060,00 mg/L	
	Control (+)	9S	Control (+)	8S, 1D	Control (+)	3N, 4B, 2S
	0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>	
	6,25 mg/L	9N	9,09 mg/L	9N	Diuiron: 1,15 mg/L	9N
					Etoprofos: 3,22 mg/L	
2	12,50 mg/L	6N, 3B	18,18 mg/L	9N	Diuiron: 2,31 mg/L	7N, 2B
					Etoprofos: 6,44 mg/L	
	25,00 mg/L	1B, 8S	36,37 mg/L	7N, 2B	Diuiron: 4,62 mg/L	2N, 3B
					Etoprofos: 12,88 mg/L	
	50,00 mg/L	1S, 8T	72,73 mg/L	3N, 6B	Diuiron: 9,24 mg/L	9B
					Etoprofos: 25,75 mg/L	
	100,00 mg/L	6T, 3D	145,46 mg/L	1B, 8S	Diuiron: 18,47 mg/L	4B, 5S
					Etoprofos: 51,51 mg/L	
	Control (-)	9N	Control (-)	9N	Control (-)	9N
	100,00 % medio hidra		100,00 % medio hidra		100,00 % medio hidra	
Control solvente	9N	Control solvente	9N	Control solvente	9N	
1150,00 mg/L		1060,00 mg/L		Diuiron: 1150,00 mg/L		
(32,00 % acetona)		(0,80 % acetona)		Etoprofos: 1060,00 mg/L		
Control (+)	9S	Control (+)	1N, 7B, 1S	Control (+)	6B, 3S	
0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		
6,25 mg/L	9N	9,11 mg/L	9N	Diuiron: 1,15 mg/L	9N	
				Etoprofos: 3,22 mg/L		
3	12,50 mg/L	3N, 6B	18,23 mg/L	9N	Diuiron: 2,31 mg/L	8N, 1B
					Etoprofos: 6,44 mg/L	
	25,00 mg/L	1B, 8S	36,46 mg/L	9N	Diuiron: 4,62 mg/L	4N, 5B
					Etoprofos: 12,88 mg/L	
	50,00 mg/L	1S, 8T	72,92 mg/L	2N, 7B	Diuiron: 9,24 mg/L	9B
					Etoprofos: 25,75 mg/L	
	100,00 mg/L	1T, 8D	145,84 mg/L	9S	Diuiron: 18,47 mg/L	9S
					Etoprofos: 51,51 mg/L	
	Control (-)	9N	Control (-)	9N	Control (-)	9N
	100,00 % medio hidra		100,00 % medio hidra		100,00 % medio hidra	
Control solvente	9N	Control solvente	9N	Control solvente	9N	
1150,00 mg/L		1060,00 mg/L		Diuiron: 1150,00 mg/L		
(32,00 % acetona)		(0,80 % acetona)		Etoprofos: 1060,00 mg/L		
Control (+)	9S	Control (+)	5S, 2T, 2D	Control (+)	3S, 5T, 1D	
0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>		
6,25 mg/L	9N	9,11 mg/L	9N	Diuiron: 1,15 mg/L	9N	
				Etoprofos: 3,22 mg/L		



Ensayo	Diuron			Etoprofos			Mezcla (diuron - etoprofos)		
	Concentración	24 h	48 h	Concentración	24 h	48 h	Concentración	24 h	48 h
3	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N	Control (-) 100,00 % medio hidra	9N	9N
	Control solvente 1150,00 mg/L (32,00 % acetona)	9N	9N	Control solvente 1060,00 mg/L (0,80 % acetona)	9N	9N	Control solvente Diuron: 1150,00 mg/L Etoprofos: 1060,00 mg/L	9N	9N
	Control (+) 0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup> 6,25 mg/L	1N, 8B	4S, 2T, 3D	Control (+) 0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup> 9,11 mg/L	2B, 7S	2S, 5T, 2D	Control (+) 0,0013 mg/L Cr <sup>-6</sup>	8B, 1S	5S, 3T, 1D
	12,50 mg/L	9N	9N	9,11 mg/L	9N	9N	Diuron: 1,15 mg/L Etoprofos: 3,22 mg/L	9N	9N
	25,01 mg/L	5N, 4B	7N, 1B, 1S	18,22 mg/L	9N	9N	Diuron: 2,31 mg/L Etoprofos: 6,44 mg/L	7N, 2B	9N
	50,02 mg/L	2B, 7S	1B, 8S	36,44 mg/L	9N	7N, 2B	Diuron: 4,62 mg/L Etoprofos: 12,88 mg/L	4N, 5B	3N, 6B
	100,04 mg/L	9S	1S, 8T	72,88 mg/L	4N, 5B	2N, 7B	Diuron: 9,24 mg/L Etoprofos: 25,75 mg/L	8B, 1S	4B, 5S
		1T, 8D	9D	145,75 mg/L	1B, 8S	9T	Diuron: 18,47 mg/L Etoprofos: 51,51 mg/L	1B, 8S	1S, 8T

*Nota:* N = hidra normal; B = hidra con tentáculos abastionados; S = hidra con tentáculos acortados; T = hidra en estado de tulipán; D = hidra desintegrada.  
 Fuente: Propia de la investigación.



Anexo G. Toxicidad de la mezcla de diuron y etoprofos según  $EC_{50}$  para la *Hydra attenuata*

Plaguicida	$EC_{50}$ (mg/L)	LCL (mg/L)	UCL (mg/L)
Diuron	4,24	2,95	6,20
Etoprofos	23,74	16,71	33,91
Diuron mezcla	0,74	0,28	2,47
Etoprofos mezcla	4,55	1,69	15,10
S	0,37	0,19	0,84
Índice aditivo	1,72	4,13	0,19
Rango del índice		(0,19... 1,72... 4,13)	
Interacción		Sinergismo	

Fuente: Propia de la investigación.

Anexo H. Toxicidad de la mezcla de diuron y etoprofos para la *Hydra viridis*

Plaguicida	Según $EC_{50}$			Según $LC_{50}$		
	$EC_{50}$ (mg/L)	LCL (mg/L)	UCL (mg/L)	$LC_{50}$ (mg/L)	LCL (mg/L)	UCL (mg/L)
Diuron	13,64	10,48	17,76	36,94	33,19	41,11
Etoprofos	53,12	38,95	72,46	103,01	103,01	103,01
Diuron mezcla	4,06	3,01	5,48	13,45	12,66	14,30
Etoprofos mezcla	11,32	8,40	15,27	37,50	35,31	39,89
S	0,51	0,50	0,52	0,73	0,72	0,74
Índice aditivo	0,96	0,99	0,93	0,37	0,38	0,36
Rango del índice		(0,93... 0,96... 0,99)			(0,36... 0,37... 0,38)	
Interacción		Sinergismo			Sinergismo	

Nota: Fuente propia de la investigación.