

INDAGACIÓN PRELIMINAR SOBRE EL IMPACTO ECOTOXICOLÓGICO DEL  
HERBICIDA ATRAZINA EN HÁBITATS NATURALES CON ÉNFASIS EN LA  
SUSCEPTIBILIDAD DE ESPECIES DE ANUROS (ANFIBIOS)

JAIDER MUÑOZ GUERRERO

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
ESPECIALIZACIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL  
2014

INDAGACIÓN PRELIMINAR SOBRE EL IMPACTO ECOTOXICOLÓGICO DEL  
HERBICIDA ATRAZINA EN HÁBITATS NATURALES CON ÉNFASIS EN LA  
SUSCEPTIBILIDAD DE ESPECIES DE ANUROS (ANFIBIOS)

JAIDER MUÑOZ GUERRERO

Trabajo de grado (Monografía) presentado como requisito para optar  
al título de Especialista en Ingeniería Ambiental

DIRECTOR:

Dra. MARTHA PATRICIA RAMÍREZ PINILLA,  
BIÓLOGA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
ESPECIALIZACIÓN EN INGENIERÍA AMBIENTAL  
2014

**AGRADECIMIENTOS:**

A Dios, mi sustento y autor de inspiración por darme la oportunidad de culminar este trabajo. A mi esposa e hijo por su apoyo y comprensión (me satisfacen su amor y ternura). A mi madre porque siempre está esperando mis éxitos para gozarse y a mis hermanos por su compañía.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	12
1. ANTECEDENTES.....	14
1. 1. HERBICIDAS Y EFECTOS COLATERALES.....	14
1. 2 LA ATRAZINA: ESPECIFICACIONES QUÍMICAS Y AMBIENTALES .....	19
1.3. IMPACTO ECOTOXICOLÓGICO DE LA ATRAZINA EN ESPECIES NO BLANCO.....	24
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
2.1. LA ATRAZINA EN COLOMBIA: NORMATIVIDAD Y ASPETOS LEGALES ...	27
2.2 SUSCEPTIBILIDAD DE LOS ANUROS A LA ATRAZINA.....	31
2.3 CONSECUENCIAS DEL IMPACTO DE LA ATRAZINA EN ESPECIES DE ANUROS NEOTROPICALES Y OTRAS.....	45
2.4 IMPORTANCIA DE LAS EVALUACIONES ECOTOXICOLÓGICAS EN ESPECIES DE ANUROS COLOMBIANOS .....	53
3. CONCLUSIONES .....	59
BIBLIOGRAFÍA.....	60
ANEXOS .....	74

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Evolución del mercado de Agroquímicos en Colombia.....	17
Figura 2. Formas de presentación de la atrazina comercializada por algunas empresas en Colombia .....	19
Figura 3. Estructura general de la atrazina.....	20
Figura 4. Estructura química de la atrazina y sus metabolitos más importantes.....	22
Figura 5. Posibles rutas de exposición de especies silvestres a la atrazina.....	23
Figura 6. Distribución global de malas hierbas resistentes a Triazinas (herbicidas) 2010.....	28
Figura 7. Mecanismo de acción de la atrazina en la inducción de la aromatasa y conversión de testosterona en estradiol (hormona femenina) en especies de anfibios.....	33
Figura 8. Gónadas (testículos: A-B) de un macho de rana leopardo ( <i>Rana pipiens</i> ) expuesto a 0,1 ppb de atrazina.....	35
Figura 9. Evidencia de hermafroditismo en especímenes de <i>Xenopus laevis</i> expuestos a atrazina.....	36
Figura 10. Incidencia de malformaciones cardíacas (A) y hemorragias viscerales (B) en larvas de <i>Xenopus laevis</i> expuestas a diferentes concentraciones de atrazina.....	44
Figura 11. Especímenes de <i>Rana pipiens</i> con malformaciones en miembros, producto de concentraciones de agroquímicos en medios naturales.....	45
Figura 12. Diversidad global de especies de anfibios por país, usando ecuación de cartogramas.....	47
Figura 13. Porcentaje de fauna anfibia en cada país en las categorías de amenaza ( <i>En Peligro Crítico</i> , <i>En Peligro</i> y <i>Vulnerable</i> ).....	56
Figura 14. Algunas especies de anuros colombianos y sus modos reproductivos a: <i>Rhinella marina</i> ; b: <i>Hypsiboas crepitans</i> ; c: <i>Engystomops pustulosus</i> .....	57

## LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Producción y venta de plaguicidas químicos de uso agrícola por tipo de control para Colombia en 2010.....	18
Tabla 2. 10 de los tipos de herbicidas más producidos y comercializados en Colombia en 2008, según los listados del ICA (2009).....	18
Tabla 3. Toxicidad aguda de la atrazina para algunas especies.....	26
Tabla 4. Lista de documentos jurídicos relacionados la reglamentación para el uso de plaguicidas y la atrazina en Colombia.....	29
Tabla 5. Reportes de trabajos que asocian el efecto de la atrazina sobre el sistema endocrino, inmunológico y la organogénesis de algunas especies de anuros y salamandra.....	36
Tabla 6. Anormalidades morfológicas en <i>Rana sylvatica</i> expuesta a atrazina y malathion.....	45

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Página</b>
Anexo A. Características químicas de la atrazina.....	74
Anexo B. Algunas empresas comercializadoras de atrazina en Colombia.....	74
Anexo C. Modelos de fichas técnicas de la atrazina publicadas por algunas empresas comercializadoras de agroquímicos en Colombia.....	75
Anexo D. Modos reproductivos frecuentes en especies de anuros colombianos, dependientes del agua.....	77

## RESUMEN

**TÍTULO:** INDAGACIÓN PRELIMINAR SOBRE EL IMPACTO ECOTOXICOLÓGICO DEL HERBICIDA ATRAZINA EN HÁBITATS NATURALES CON ÉNFASIS EN LA SUSCEPTIBILIDAD DE ESPECIES DE ANUROS (ANFIBIOS)\*

**AUTOR:** JAIDER MUÑOZ GUERRERO\*\*

**PALABRAS CLAVES:** herbicidas, atrazina, disruptor endocrino, biodiversidad, ecotoxicología, anuros, anfibios.

### DESCRIPCIÓN:

Se realiza la revisión de información relacionada con el impacto ecotoxicológico del herbicida atrazina en los anuros (anfibios), para indagar los efectos colaterales de este agroquímico como disruptor endocrino y contaminante de hábitats naturales colombianos, con afectación a la supervivencia de la vida silvestre.

Existe información de que la atrazina ha sido uno de los herbicidas más usados en Norte América para controlar malezas en los cultivos de cereales, varias décadas atrás, influyendo en la aparición de alteraciones fisiológicas de varias especies no blanco (entre ellas los anuros), como: disrupción endocrina en la actividad reproductiva, depresión inmunitaria e incidencia en aparición de malformaciones. Por ello la EPA toma la decisión de restringir su comercialización hasta prohibirlo, por evidencia de altas concentraciones encontradas en fuentes de agua superficiales usadas para consumo humano. Las manifestaciones de preocupación hacia este agroquímico han sido variadas, reportándose datos del riesgo eventual gracias a los trabajos de laboratorio realizado, hasta el punto que algunos países de la Unión Europea se suman a investigar y a las decisiones de su prohibición. En Colombia se ha manejado como un herbicida común y legalmente establecido. La información reportada se relaciona con la degradación en suelo, mayormente en zonas de Tolima, pero no hay datos que reporten trabajos que involucran los anuros, como ha sido para otros herbicidas, entre estos, el glifosato. Por tanto se recomienda impulsar investigaciones hacia la determinación de los impactos ambientales de la atrazina a nivel nacional, a similares niveles de Norte América y Europa como comparación y también inferir sobre su posible efecto a largo plazo de tipo mutagénico en especies que habitan las zonas agrícolas donde frecuentemente se sigue aplicando, ya que de lo contrario se podría estar omitiendo un compuesto de altos niveles de toxicidad para la biodiversidad nacional.

---

\*Proyecto de grado (Monografía)

\*\* Facultad de Ciencias Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Dra. Martha Patricia Ramírez Pinilla

## ABSTRACT

**TITLE:** PRELIMINARY INQUIRY ON ECOTOXICOLOGICAL IMPACT OF THE HERBICIDE ATRAZINE IN NATURAL HABITATS WITH EMPHASIS ON THE SUSCEPTIBILITY OF ANURANS (AMPHIBIANS) SPECIES\*

**AUTHOR:** JAIDER MUÑOZ GUERRERO\*\*

**KEYWORDS:** herbicides, atrazine, endocrine disruptor, biodiversity, ecotoxicology, frogs, amphibians.

### **DESCRIPTION:**

This study has a revision of the information related to the ecotoxicological impact of the herbicide atrazine in frogs (amphibian) in order to investigate the side effects of this agrochemical pollution and endocrine disruptor of the Colombian natural habitats, affecting the survival of wildlife species.

Atrazine has been considered one of the most common herbicides used in North America to control weed in cereal crops since long time. It has caused some influence in the appearance of physiological alterations of several non-target species (frogs): such as endocrine disruption in reproductive activity, immune depression and the incidence in the apparition of malformations.

Therefore, the EPA makes a decision to restrict marketing to prohibit, by evidence of high concentrations found in surface water sources used for human consumption. Expressions of concern for this agrochemical have been varied, reporting data possible risk due to laboratory work, to the point that some countries in the European Union in addition to research and decisions of prohibition. In Colombia it has been used as a common herbicide and legally established. The information reported is related with the soil degradation, mostly in areas of Tolima, but no there is data to report review that involve anurans, as it has been for other herbicides, among these, glyphosate. It is therefore recommended for investigations to determine the environmental impacts of atrazine at the national level, at similar levels in North America and Europe as a comparison and infer about its possible long-term effect of mutagenic type species living in agricultural areas where often still applies, because otherwise you could be missing a compound of high toxicity levels for national biodiversity.

---

\*Project of Grade (Monograph)

\*\*Faculty of Physicochemical Science. School of Chemical Engineering. Head teacher: Dra. Martha Patricia Ramírez Pinilla

## INTRODUCCIÓN

Dentro de los agroquímicos se encuentran los “plaguicidas”, que son sustancias generalmente tóxicas, con estructuras complejas y estables persistentes en el medio ambiente, que incluyen principalmente: insecticidas, fungicidas y herbicidas (Comunidad Andina, 2002). Se pueden destacar los herbicidas como un grupo particular de sustancias que si bien son usadas para el control de malezas y beneficio en la productividad de cultivos tradicionales o erradicación de ilícitos en nuestro país, están catalogados como nocivos y de moderada toxicidad para especies de animales silvestres y para humanos, que son organismos no blanco de estos compuestos (Castro, 2003; Fuentes, 2008; Rondón *et al.*, 2010).

La descontrolada actividad agrícola, la falta de normatividad adecuada en la producción, distribución y uso de estos compuestos y el poco control en las estrategias de erradicación de cultivos usados para la producción de estupefacientes, está logrando un lento pero incisivo deterioro de nuestros ecosistemas terrestres y acuáticos (Castro, 2003; Vergara *et al.*, 2009) y posiblemente un fuerte efecto para poblaciones de anuros dentro de la fauna anfibia colombiana (Gallo *et al.*, 2006; Lynch & Arroyo, 2009).

La normatividad nacional con respecto al uso de insumos agrícolas en teoría permite el uso de estos compuestos con algunas restricciones y prohibiciones generales para evitar alteraciones que puedan causar los componentes de estos agroquímicos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2003; ICA, 2005; MAVDT, 2009) en especial a la salud humana, sin excluir a la biodiversidad natural receptora de los componentes químicos que llegan al ambiente. Sin embargo, algunas investigaciones nacionales han detectado la posibilidad que estos compuestos residuales pueden estar afectando indirectamente elementos esenciales de las cadenas tróficas de nuestros ecosistemas naturales (Segnini de Bravo *et al.*, 2005; Fuentes *et al.*, 2008; Patiño, 2009), alterando la fisiología y funcionamiento

ecológico de organismos sensibles como por ejemplo varias especies de anfibios anuros (Gallo *et al.*, 2006; Lynch & Arroyo, 2009), que podrían ser catalogados como bioindicadores de la salud ambiental.

Los anfibios pueden ser un grupo ecológico focal para desarrollar trabajos de investigación relacionados con los efectos tóxicos y/o degenerativos causados por los componentes activos de estos agroquímicos, en este caso componentes del reconocido herbicida Atrazina (2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-1,3,5-triazina), el cual ha sido abundantemente usado en Norteamérica por su bajo costo y alto rendimiento en la eliminación de malas hierbas (pre-emergencia y post-emergencia) (Solomon *et al.*, 1996). Este herbicida en el pasado reciente ha concentrado la atención de los investigadores como un herbicida nocivo para especies de anuros en diferentes lugares en la zona templada (Hayes, 2005; Hayes *et al.*, 2006; Mayet *et al.*, 2008; Scahill, 2008; Solomon *et al.*, 2008).

Es por ello que se plantea esta revisión como material básico para complementar investigaciones preliminares futuras sobre este tema en nuestro país, y delimitar la posible afectación de este herbicida hacia poblaciones de anuros regionales y nacionales de necesaria atención como componentes de nuestra biodiversidad. Se proponen así los siguientes **objetivos**: Identificar características fisicoquímicas del herbicida atrazina y las condiciones de aplicabilidad y uso en Colombia; reportar los efectos fisiológicos y ecológicos de la atrazina sobre especies de anuros de zonas templadas; recopilar información de las especies de anuros nacionales y/o regionales que puedan aportar evidencias según sus características fisiológicas y ecológicas a la afectación toxicológica de los componentes de este agroquímico y proporcionar información sobre experimentación *ex situ* a través de bioensayos o pruebas ecotoxicológicas en medios artificiales o adaptados.

## 1. ANTECEDENTES

### 1. 1. HERBICIDAS Y EFECTOS COLATERALES

Independientemente de sus beneficios, es evidente que los plaguicidas son sustancias químicas deliberadamente tóxicas, creadas para interferir algún sistema biológico en particular y que carecen de selectividad real (OMS, 1993). Afectan simultáneamente, y en mayor o menor grado, tanto a la «especie blanco» como a otras categorías de seres vivos, inclusive el ser humano. Actualmente, miles de productos se comercializan en todo el mundo, sin que sus efectos nocivos sean obstáculos que limiten su producción (FAO, 2010) y Colombia no es la excepción (ICA, 2011; León & Rodríguez, 2005).

Según el Manual Técnico Andino (2002), los herbicidas hacen parte de los plaguicidas, que son agentes físicos, químicos o biológicos utilizados para destruir o inhibir el crecimiento de las plantas indeseables (malezas) y en nuestro medio, útiles también para la erradicación de cultivos ilícitos (Solomon *et al.*, 2007; Castro, 2003). Históricamente su uso se remonta al año 1900, época en que se pudo comprobar que las soluciones de nitrato de cobre, de sulfato de amonio y de algunas sales de potasio eran efectivas para el control de malezas en los cultivos de cereales (Taylor *et al.*, 2003).

El control químico de malezas, se ha transformado en las últimas décadas en una herramienta muy poderosa para aumentar la productividad de los sistemas agroforestales (Adler, 2011; Torrado, 2005). Ante la incesante demanda de productos requerida por un mundo cada vez más globalizado, que crece a una elevada tasa, los sectores agrícolas y forestales deben responder aumentando la cantidad y calidad de sus productos. Sin embargo, el uso de sustancias químicas, aunque está contribuyendo al propósito de mejorar los rendimientos agrícolas, ha

provocado en forma paralela una alerta ambiental, debido a los problemas que se han detectado respecto a impactos negativos al suelo, al agua, a organismos que viven en el suelo y también al hombre, considerados organismos no blanco (Alvear *et al.*, 2006; Rohr & Crumrine, 2005).

Las aplicaciones de herbicidas con diferentes composiciones químicas y formas de acción, han demostrado su enorme capacidad para eliminar la competencia entre las malezas y las plantaciones forestales y cultivos agrícolas, por agua, nutrientes, luz y espacio (Fischer & Binkley, 2001). Esto ha permitido aumentar los rendimientos de las plantaciones y también ampliar la diversidad de productos que pueden obtenerse de las plantaciones, al aumentar los rendimientos y la calidad de los productos (Castro, 2003; García & Fernández, 1991). No obstante, a pesar de esos logros, algunos herbicidas han sido cuestionados por razones ambientales, debido a que contaminan el suelo y el recurso hídrico o afectan la salud de los habitantes, lo cual podría estar afectando económicamente y ambientalmente muchos países tanto desarrollados como en vía de desarrollo (Patiño, 2009; Pimentel, 2005; Auditoria General de la Republica, 2004) sobre todo cuando se presenta resistencia de las malezas a algunos de estos agroquímicos, lo que fomenta el uso indiscriminado de estos por los agricultores y personas a cargo de los cultivos, que desconocen tal situación (Adler, 2011).

Es muy frecuente encontrar en la formulación de herbicidas diferentes mezclas de compuestos químicos con el fin de aumentar la toxicidad o acelerar los efectos en las plantas blanco. Es decir, en su formulación, se incluye un principio activo, más o menos diluido en un soporte sólido o disolvente líquido, junto con otras sustancias auxiliares conocidas como coadyuvantes (Papa, 2007).

Existen en la actualidad una gran cantidad de formulaciones distintas con unos 1.500 principios activos diferentes, con una mezcla de nomenclatura química y comercial que complica enormemente su identificación (Castro, 2003). Esta y otras

razones como la falta de evaluación toxicológica de estos componentes, la residualidad y tiempo de degradación en el medio y los sitios a donde los metabolitos secundarios van a parar, son parte de los temas que muchos especialistas de esta área tratan de abordar para encontrar estrategias que puedan favorecer la solución a este problema ambiental (Castro, 2003; Arbeli & Fuentes, 2007; Fuentes, 2008).

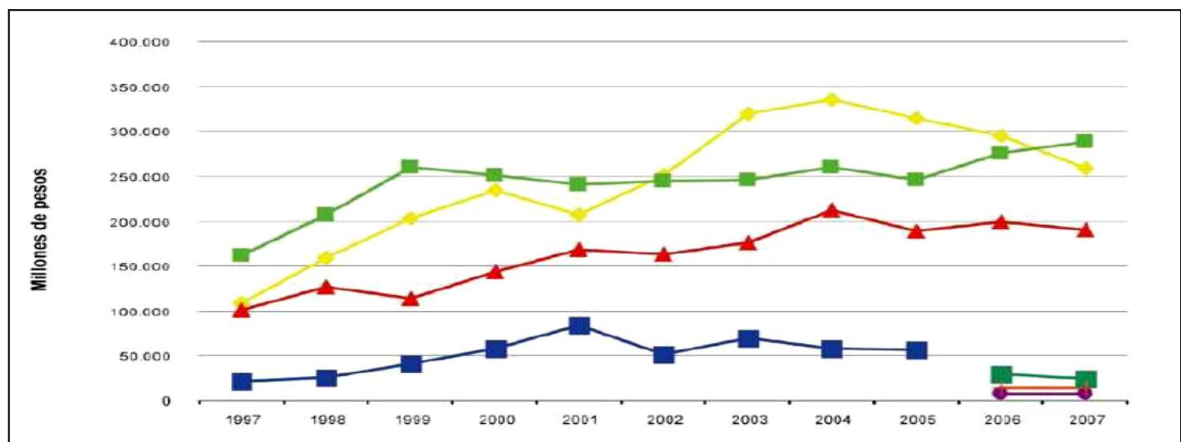
Por ejemplo, los principios activos de algunos herbicidas suelen perdurar mucho tiempo, lo que significa que permanecen en el medio ambiente aún meses después de su cese en la aplicación o eventual prohibición (Fuentes, 2008). Según Brady (1996), cuando un plaguicida es aplicado a un cultivo, solamente alcanza el organismo “blanco” aproximadamente el 1%, mientras que el 25 % es retenido en el follaje, el 30 % llega al suelo y el 44 % restante es exportado a la atmósfera y a los sistemas acuáticos por escorrentía y lixiviación. Posteriormente el compuesto puede ser transportado desde el suelo hacia el aire, agua o vegetación, pudiendo entrar en contacto con una amplia gama de organismos, incluyendo los seres humanos, por inhalación, ingestión o absorción a través de la piel y otras estructuras.

Con la adaptación de las especies a los productos aplicados (resistencia a los herbicidas), las empresas generalmente incrementan la toxicidad de los productos; como consecuencia, una serie de estos productos se ven proscritos en la venta cada año en Europa y occidente, al revelar los riesgos sanitarios que se presentan (Adler, 2011; Taberner *et al.*, 2007). La Organización Mundial de la Salud (OMS) plantea la sombría perspectiva de los efectos de dichos productos en el Sur (Taberner *et al.*, 2007), los cuales consecuentemente a falta de estudios y análisis sanitarios y ambientales siguen su rutina de producción, importación y aplicación en las áreas agrícolas de países como Colombia (Torrado, 2005; ICA, 2011), afectando la biodiversidad de grupos vertebrados como anfibios (Rueda *et al.*, 2004).

Esta situación ha generado la exigencia del cumplimiento de una serie de requisitos tanto regulatorios como no regulatorios por parte de las autoridades fitosanitarias y de los comercializadores de alimentos en el mercado regional influido por reglamentaciones mundiales (León & Rodríguez, 2002; Torrado, 2005; FAO, 2010). Por tal razón, la tendencia a nivel mundial, es disminuir la cantidad de sustancias químicas que se aplican periódicamente a los ecosistemas agroforestales para evitar los numerosos daños tanto directos y colaterales (FAO, 2010). Esto obligará a las empresas, a buscar nuevas estrategias de manejo, redefiniciones de los tradicionales esquemas de control de malezas, considerando la relación costo: beneficio en el efecto directo sobre el crecimiento de la vegetación, como en los efectos indirectos, considerando la salud de todos los componentes bióticos que viven en los diversos ecosistemas agroforestales y acuáticos.

Según el informe de comercialización de plaguicidas en Colombia para el 2008, el ICA (2009) reporta que los herbicidas son el segundo grupo de agroquímicos de mayor producción con un 55.79% en Litros (Lt) y 9.60% en Kilogramos (Kg) después de los fungicidas, lo cual es muy similar a lo reportado por la ANDI para el 2007 (figura 1).

Figura 1: Evolución del mercado de Agroquímicos en Colombia



◆ Fungicidas    ■ Herbicidas    ▲ Insecticidas    ■ Otros    ■ Fertilizantes foliares  
 ● Reguladores de crecimiento    + Coadyuvantes  
 Fuente: Balance Final 2007- ANDI

Para el 2010, este mismo informe muestra la producción y venta de herbicidas entre los primeros lugares (tabla 1).

**Tabla 1.** Producción y venta de plaguicidas químicos de uso agrícola por tipo de control para Colombia en 2010. Tomado de: ICA (2011).

Tipo de Acción	Kg				L			
	Producción	%	Ventas	%	Producción	%	Ventas	%
FUNGICIDA	19.690.293	80.03%	6.973.173	58.03%	3.623.423	14.40%	4.693.494	14.44%
HERBICIDA	1.587.926	6.45%	2.066.583	17.20%	15.999.216	63.59%	20.892.975	64.27%
INSECTICIDA	3.325.204	13.52%	2.835.545	23.60%	5.392.387	21.43%	6.497.693	19.99%
OTROS		0.00%	120.719	1.00%	46.863	0.19%	201.190	0.62%

Según la WSSA (1994), los herbicidas son compuestos químicos que inhiben total o parcialmente el crecimiento de las plantas. Estos se pueden clasificar usando diversos criterios como estructura química, modo de acción fisiológica, usos agronómicos, comportamiento edáfico y época de aplicación, entre otros (García & Fernández, 1991). En Colombia hacen parte de un grupo destacable, ya que su uso se ha intensificado en las últimas décadas para eliminar malezas de rápido crecimiento que afectan cultivos específicos como arroz, maíz, sorgo, trigo y otros como caña de azúcar, frutales y hortalizas (Castro, 2003; ICA, 2008; ICA,2011).

Entre los 10 herbicidas más producidos y comercializados en Colombia por tipo de control e ingrediente activo en Kilogramos (Kg) y en Litros (L), según el ICA (2009 y 2011), se encuentran los siguientes:

**Tabla 2.** 10 de los tipos de herbicidas más producidos y comercializados en Colombia en 2008, según los listados del ICA (2009). Se presentan las cantidades en Kilogramos y en litros producidos y/o vendidos en el año.

Herbicida/ingrediente activo	Kg		L	
	PRODUCCIÓN	VENTAS	PRODUCCIÓN	VENTAS
2,4 D ácido	209,333	100,846	2,286,951	1,860,158
AMETRINA	3,105	-----	364,361	305,767
<b>ATRAZINA</b>	3,003	70,492	56,872	22,919
CLOMAZONE	15,640	35,617	3,508	30,972
DIURÓN	1,545,800	370,100	80,910	110,294
OXADIAZON	27,652	24,532	322,976	194,408
PENDIMETALINA	195,171	131,244	124,523	381,321

PARAQUAT	-----	-----	2,140,700	1,554,264
GLIFOSATO	-----	2,330	6,025,527	5,300,010
PROPANIL	-----	67,500	1,428,156	483,722

## 1. 2 LA ATRAZINA: ESPECIFICACIONES QUÍMICAS Y AMBIENTALES

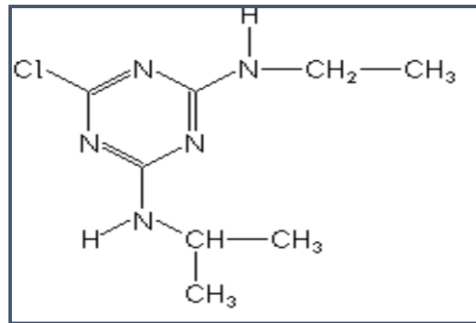
Actualmente existen en el mercado mundial más de 150 ingredientes activos con propiedades herbicidas, que pertenecen a diferentes familias o grupos químicos (HRAC, 2013). Una familia importante de herbicidas son los compuestos triazínicos, dentro de la cual se encuentra el herbicida atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-1,2,5-triazina), fórmula química:  $C_8H_{14}ClN_5$  (Solomon *et al.*, 2008; Eisler, R. 1989), comercializado también en Colombia desde hace décadas según ICA (2011) (figura 2).

Figura 2. Formas de presentación de la atrazina comercializada por algunas empresas en Colombia. Fuente: Vecol S.A y DV AGRO.



Estos compuestos nitrogenados son comúnmente utilizados para el control del crecimiento de malezas y su base química estructural está formada por anillos de seis miembros que contienen tres nitrógenos (Figura 3) y una azina (se refiere a un anillo formando los nitrógenos heterocíclicos intercalados en la estructura cíclica del compuesto (Solomon *et al.*, 2008).

Figura 3: Estructura general de la Atrazina.



Tomado de: Solomon *et al.* (2008)

Según estudios realizados en Estados Unidos por la Agencia para la Protección Ambiental (EPA, 2003) por sus siglas en inglés, la atrazina ha recibido mucha atención debido a la facilidad de manifestarse de forma residual moderadamente tóxica en aguas superficiales tanto salada como dulce, esta última con importancia para la salud humana y con posibilidades de afectar otras especies no blanco (Eisler, 1989). Por ello, a través del departamento de aguas de esta entidad se propuso analizar trabajos de investigación que facilitaran evidenciar los efectos nocivos de este compuesto y tener criterios para aportar legalmente en la toma de decisiones sobre las concentraciones mínimas que deberían presentar las aguas de uso en el país.

Sin embargo, aún antes de que la EPA tomara la decisión de hacer seguimiento a la atrazina, una de las primeras revisiones sobre la incidencia de la atrazina y sus efectos tóxicos fue realizada por Eisler (1989), quien presenta las amenazas de este compuesto para peces e invertebrados acuáticos, entre otros.

Otra revisión más recientes que recopila información de los efectos de la atrazina para varias especies incluyendo especies de anfibios ha sido la realizada por Solomon *et al.* (2008), de la cual se mencionarán algunas características fisicoquímicas y biológicas de este agroquímico: La Atrazina es un herbicida

desarrollado específicamente como una fitotoxina, cuyo mecanismo de acción está dirigido a las plantas, por lo cual su efecto tóxico es mayor en estas que en los animales. En las plantas blanco: como malezas especialmente de cultivos de arroz, trigo, soja, caña de azúcar entre otros, inhibe la fotosíntesis en el fotosistema II, afectando la síntesis de carbohidratos en la planta, originando una disminución de las reservas de carbono y una sobresaturación de CO<sub>2</sub> al interior de las células de la misma (Devine *et al.*, 1993).

La alta capacidad de persistencia de la atrazina en medios acuáticos y húmedos aumenta la probabilidad de exposición de algunos organismos que usan estos hábitats; aunque se cree que existe poca bioacumulación en tejidos de algunos animales como peces y ranas, la bioconcentración no se magnifica en la cadena alimenticia, ya que se metaboliza rápidamente en estos organismos (Solomon *et al.*, 2008).

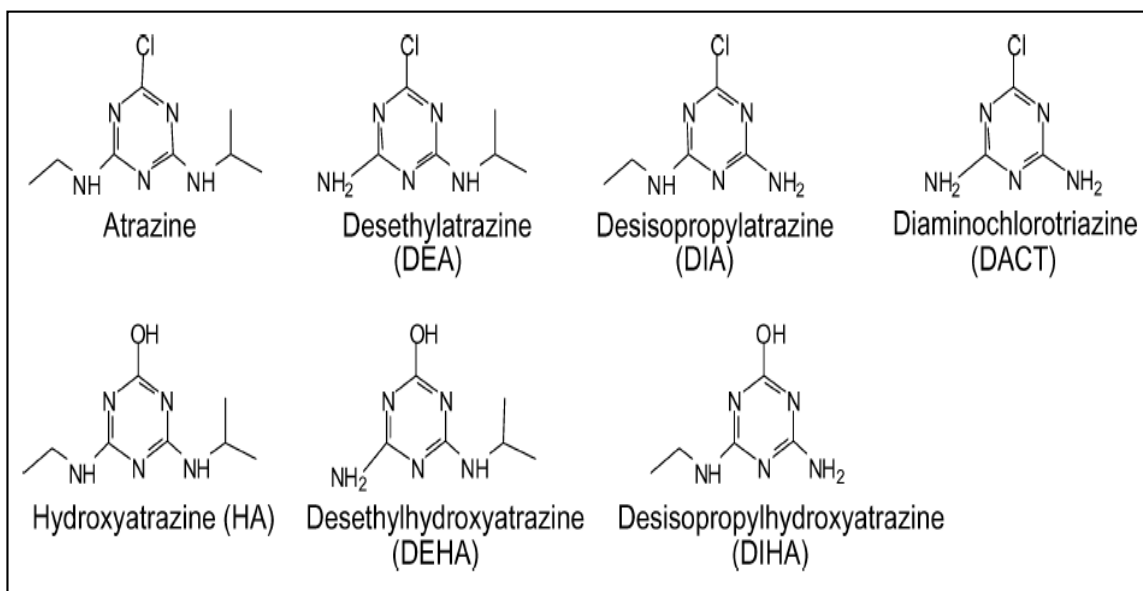
El comportamiento de herbicidas como la atrazina en el suelo, depende de varios factores, tales como las características fisicoquímicas del herbicida (anexo 1), de la actividad superficial de los componentes orgánicos e inorgánicos del suelo, de las propiedades del suelo y de la cantidad de herbicida aplicado, entre otros (Fuentes, 2008; Goviet *et al.*, 1996). Las propiedades del herbicida y los constituyentes del suelo con los cuales el herbicida entra en contacto, son de importancia primordial en la determinación de los mecanismos de adsorción y por ende, de la bioactividad y movilidad del compuesto (Fuentes, 2008; García & Fernández, 1991).

Según Howard (1991), la molécula de atrazina suele ser algo resistente a la degradación en ambientes acuáticos. La degradación química ocurre por hidrólisis y *N*-dealquilación. La fotólisis no ocurre en aguas donde se reciban longitudes de onda mayores a 300 nm. Se ha encontrado, gracias a varios estudios (Giddinds *et al.*, 2005; Novartis, 2000) que la vida media de la atrazina en el agua tiene un rango de 41 a 237 días con promedio de 159 días (SD=71d), en suelos anaerobios o

sedimentos el rango está entre 58 a 547 días con promedio de 228 d (SD=168 d) y su tiempo de vida media en disiparse en el campo es de 8 a 99 días. Por ello, varios de estos investigadores confirman, que la relativa persistencia de la atrazina en aguas superficiales incrementa el potencial de riesgo para organismos acuáticos, particularmente aquellos que presentan gran parte de su ciclo de vida en estos ecosistemas.

Son varios los metabolitos o productos derivados de la atrazina (Figura 4), los cuales se forman gracias a los procesos de degradación en el suelo y que al parecer a diferencia de otros tipos de herbicidas, no son metabolitos fitotóxicos como el compuesto parental, pero pueden tener cierta residualidad en el suelo y agua (Solomon *et al.*, 2008). Aunque existen pocos estudios sobre el tiempo específico de duración en el suelo o el agua del medio donde se formaron, basados en resultados de estudios con mamíferos y otros organismos, Sanderson *et al.* (2001), consideran que estos metabolitos podrían presentar cierto riesgo potencial en el medio ambiente.

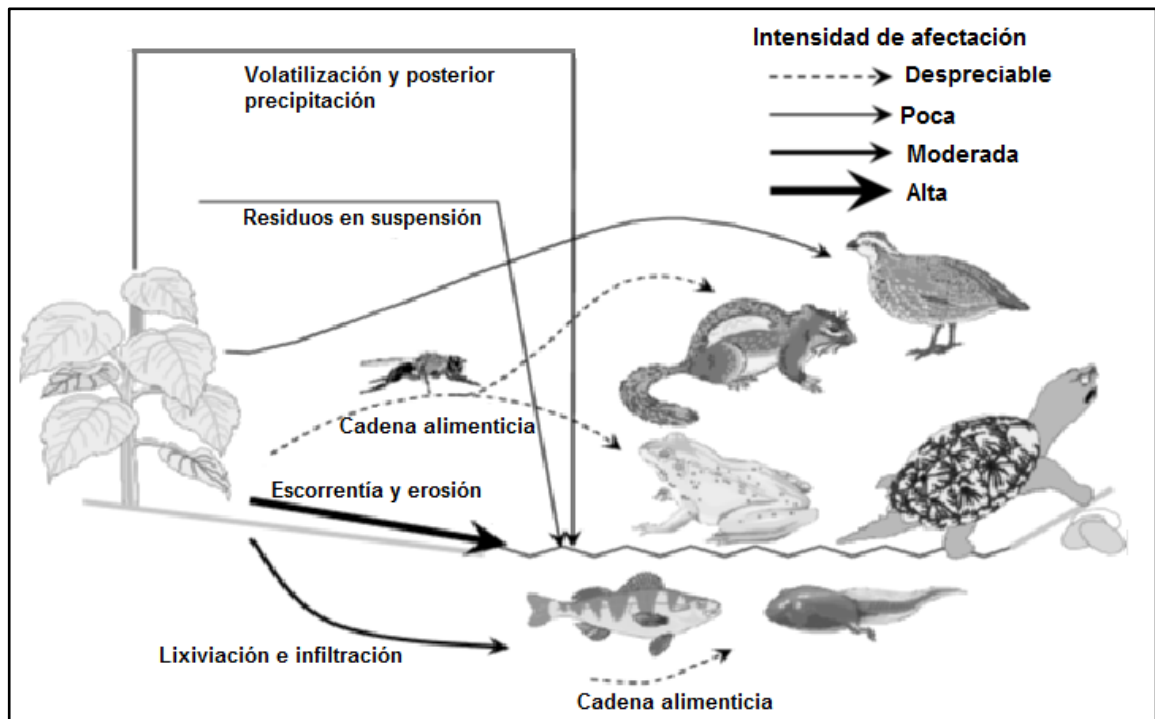
Figura 4. Estructura química de la Atrazina y sus metabolitos más importantes.



Fuente: Solomon *et al.* (2008).

Existen varias rutas de exposición de la atrazina a especies silvestres, con base en información recopilada de varios estudios que han llevado a determinar los efectos de la atrazina sobre especies de peces, anfibios y reptiles acuáticos (Solomon *et al.*, 2008), la figura 5 muestra las posibles rutas de afectación o influencia ecotoxicológica de la atrazina a la vida silvestre en diferente grado de representatividad.

Figura 5. Posibles rutas de exposición de especies silvestres a la Atrazina. El grosor de las líneas indica el grado de importancia de la ruta de exposición.



Fuente: Modificado de Solomon *et al.*(2008).

La escorrentía y lixiviación después de fuertes lluvias es la ruta primaria de entrada de la atrazina a aguas superficiales y el suelo y como segunda ruta está la infiltración gracias a la capacidad del suelo y a su drenaje, la cual afecta aguas subterráneas (Fuentes, 2008; Sánchez *et al.*, 2008).

La vida silvestre terrestre puede estar expuesta a la atrazina a través del consumo de alimentos o agua contaminada. Se han reportado estimativos de exposición de estos organismos los cuales están en un rango de 60 a 960 mg/kg para pequeños herbívoros (15 g) expuestos a una tasa de aplicación de 4 kg/ha usado en cultivos de caña de azúcar con una concentración de 16.5-264 mg/kg en estos animales, y la tasa de aplicación más común de 1.2 kg/ha usado en maíz en los Estados Unidos (EPA, 2003).

Los hábitats acuáticos ocupados por vida silvestre más susceptibles a la exposición con este tipo de agroquímico, incluyen: charcas naturales permanentes y efímeras, desagües de granjas agrícolas, arroyos, ríos, reservorios, lagos y eventualmente aguas marinas costeras, estos últimos no tan importantes para especies de anuros, pero si para peces y algunos reptiles. Sin embargo, entre estos sitios los más estudiados son los cuerpos de agua superficiales como charcas y pantanos asociados a zonas de actividad agrícola (Solomon *et al.*, 2008), donde los análisis en aguas superficiales han mostrado el efecto dañino que tiene este agroquímico en varios lugares de Norte América (Rohr & McCoy, 2010; Christin *et al.*, 2004).

### **1.3. IMPACTO ECOTOXICOLÓGICO DE LA ATRAZINA EN ESPECIES NO BLANCO.**

Aunque en los últimos años diversas investigaciones han mostrado que el uso de herbicidas puede producir diversos efectos sobre la biomasa microbiana y las actividades enzimáticas del suelo (Alvear *et al.*, 2006), algunos han logrado establecer que adicionalmente varias especies de fauna acuática y terrestre pueden ser alteradas por los residuos de herbicidas (Giddinds *et al.*, 2005).

Un estudio de la Universidad Nacional de Colombia, documentó sobre el destino ambiental de plaguicidas como atrazina y glifosato, proponiendo la importancia de

la determinación y análisis detallado del impacto que tienen pequeños residuos de este herbicida en las aguas superficiales (Patiño, 2009; Fuentes, 2008), lo que deja abierta la posibilidad de que este compuesto pueda estar afectando a otras especies de vida silvestre no blanco para este agroquímico.

La figura 5, contiene una representación de lo que son las especies no blanco o especies a las cuales no va dirigida la acción química directa del compuesto, pero que sus componentes asociados pueden afectar indirectamente la supervivencia y estabilidad de ellas en su hábitat o ambiente natural.

Aunque la atrazina es un compuesto netamente fitotóxico, su residualidad estaría siendo un factor de riesgo para otras especies particulares (figura 5) que alcanzan a permanecer en las vecindades del lugar de aplicación de este agroquímico, afectando no solamente a los organismos individualmente, sino las cadenas tróficas que componen el ecosistema implicado (Fuentes, 2008; Giddings *et al.*, 2005).

Según los trabajos de Fuentes (2008) la atrazina que es movilizada desde el suelo hacia arroyos u otros cuerpos de agua permanecerá ahí por mucho tiempo debido a que la degradación de esta sustancia en ríos y lagos es lenta. También permanecerá por mucho tiempo en el agua subterránea. Este es uno de los motivos por el cual la atrazina se encuentra frecuentemente en muestras de agua tomadas en pozos de agua potable en ciertas regiones agrícolas (Olarte *et al.*, 2008).

La toxicidad crónica de la atrazina ha sido evaluada para algunos organismos acuáticos en factores puntuales como la supervivencia y el crecimiento (Giddings *et al.*, 2005), según estos autores específicamente para reptiles, peces y anfibios. Las concentraciones encontradas en los trabajos han variado de acuerdo a la metodología usada y al tipo de ensayo, sin embargo los datos de concentraciones se han estandarizado para expresarse en  $\mu\text{g/L}$  para facilitar su comparación (Solomon *et al.*, 2008).

Concentraciones entre 0 y 10 µg/L aún dentro del rango asignado por la EPA (< 10 µg/) como mínimas concentraciones en las aguas de cuerpos naturales o cercanos a áreas agrícolas (EPA, 2003), se ha encontrado en trabajos de Hayes (2009); Hayes (2004) y Hayes *et al* (2003) no evidencia de letalidad para los organismos pero si un efecto drástico en el funcionamiento hormonal, comportamental e inmunológico de los organismos expuestos.

La determinación de la toxicidad aguda de la atrazina está basada en estudios con algunas especies usadas para bioensayos que han generado pautas y recomendaciones para su uso o prohibición en varios países donde se ha revaluado la producción y comercialización. La tabla 3 muestra esta información a través de la dosis letal oral y dérmica para varias especies.

**Tabla 3.** Toxicidad aguda de la atrazina para algunas especies. Se exponen datos que muestran, que este compuesto es moderadamente tóxico; la DL 50 oral varía entre 750-3000 mg/Kg, y la DL 50 dérmica entre 3000 y 7500 mg/Kg. A dosis altas las ratas mostraron excitación seguida por depresión, pérdida de la coordinación, espasmos musculares é hipotermia (Hayes & Laws, 1990).

Parámetro	Especie animal	mg/Kg
DL <sub>50</sub> Oral	Ratas	672-3000
	Ratones	850-1750
	Conejos	750
	Hamster	1000
DL <sub>50</sub> Dérmica	Conejos	7500
	Ratas	3000

## **2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.1. LA ATRAZINA EN COLOMBIA: NORMATIVIDAD Y ASPETOS LEGALES**

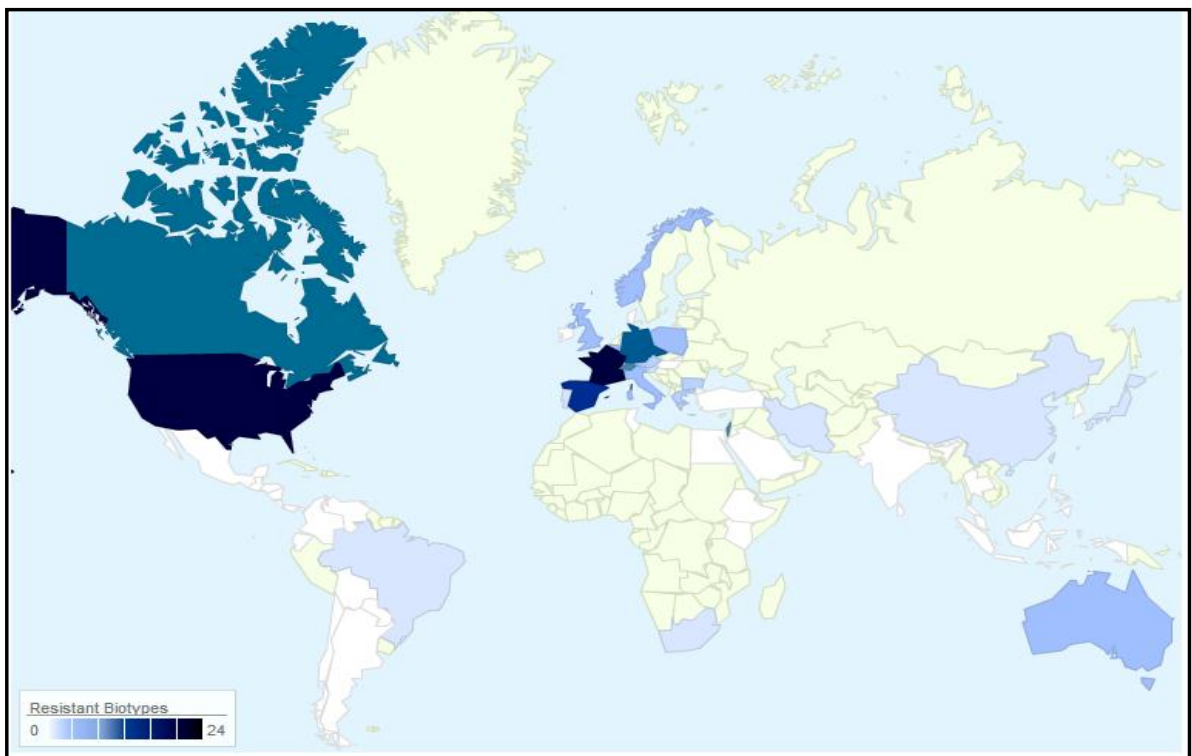
De los diferentes peligros químicos asociados a la producción primaria de alimentos, los plaguicidas y específicamente los residuos que se derivan de su aplicación, se constituyen hoy en día en el principal grupo de atención y es por ello que los residuos de plaguicidas están condicionando y van a condicionar más en el futuro el comercio de estos productos y por tanto el control de plagas en el campo (FAO, 2011; Torrado, 2005).

El Codex Alimentarius confirma la definición de residuo de plaguicida como cualquier sustancia o sustancias presentes en un producto alimenticio de consumo humano o animal, resultante de la utilización de un plaguicida, incluyendo también cualquier derivado específico, producto de degradación o conversión considerado toxicológicamente importante (FAO,2011). De ahí la importancia de las regulaciones sanitarias exigidas por el mercado agroalimentario, pero no solamente estas si no a nivel ambiental y de salud de los ecosistemas, que son los que reciben de forma latente las repercusiones finales de estos herbicidas.

La producción agrícola en Colombia depende mucho de compuestos agroquímicos como los herbicidas, para el crecimiento y rendimiento de los diferentes cultivos que benefician al país, buscando a nivel comercial varios frentes de suministros como son: producción y venta interna con materia prima importada o compuestos ya elaborados en el exterior e importados para su posterior comercialización, y adicionalmente una fracción de estos productos como exportaciones (ICA, 2009; Torrado, 2005).

La atrazina ha sido uno de los herbicidas más usados en Norteamérica y Europa desde hace aproximadamente 40 años. Situación que ha llevado a la aparición de resistencia de varias malezas (> 60 especies) con mayor intensidad que otro herbicida (figura 6). Por ello, dado el considerable tiempo de uso de la atrazina en estos países y gracias a las investigaciones sobre la base de sus propiedades fisicoquímicas es considerada, especialmente en zonas templadas, como un contaminante potencial de las aguas superficiales y subterráneas (EPA, 2003-2011; Mirgain *et al.*, 1993).

Figura 6. Distribución global de malas hierbas resistentes a Triazinas (herbicidas) – 2010. Se indican sombreados los países con especies de malezas resistentes a compuestos herbicidas triazínicos.



Fuente: Herbicide Resistance Action Committee (HRAC), the North American Herbicide Resistance Action Committee (NAHRAC), and the Weed Science Society of America (WSSA). Fuente: [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com)

En Colombia aún no se han reportado casos parecidos en cuanto a la resistencia de malezas tratadas con este compuesto (figura 6). No obstante, la atrazina se ha usado desde hace algunos años para los cultivos comunes de arroz, sorgo y caña de azúcar en departamentos como Caldas, Tolima, Antioquia y Valle del Cauca, entre otros (Patiño, 2009; Fuentes, 2008) y su comercialización, uso y mecanismos de aplicación se siguen dando aún con pocos registros de control y normatividad (Loaiza, 2005, Auditoria General de la Republica, 2004). Sin embargo si se ofrece gran publicidad por parte de las empresas comercializadoras que presentan sus fichas técnicas con las características de uso y posibles indicaciones de sus efectos tóxicos (anexo 2).

De acuerdo con nuestra legislación colombiana con respecto a este tema del uso y control de plaguicidas, existen varias reglamentaciones que han sido emitidas por el estado a través de los entes encargados y de regulaciones internacionales o grupos regionales de países convocados. Además de algunos dictámenes técnicos sobre la atrazina, que *a priori* nos dejan ver su permisibilidad de uso.

Aquí se resumen algunos documentos jurídicos, partiendo desde el estado inicial en la proclamación de los derechos fundamentales consignados en la Constitución Política de Colombia (1991) y otras disposiciones adicionales como leyes, resoluciones o decretos, entre otros (Tabla 4):

**Tabla 4.** Lista de documentos jurídicos relacionados la reglamentación para el uso de plaguicidas y la atrazina en Colombia.

Tipo Jurídico	Contenido
Constitución Política de Colombia, 1991: artículo 11; artículo 79  El derecho fundamental a la vida y el derecho a disfrutar de un ambiente sano.	El estado Colombiano garantiza el derecho a la vida y a gozar de un ambiente sano, con las condiciones básicas que rodean a la persona y permiten su supervivencia biológica e individual.

Constitución Política de Colombia, 1991: artículo 80.  Planificación del manejo y aprovechamiento de los recursos naturales.	El Estado planificará el manejo y aprovechamiento de los recursos naturales, para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración o sustitución. Además, deberá prevenir y controlar los factores de deterioro ambiental, imponer las sanciones legales y exigir la reparación de los daños causados. Así mismo, cooperará con otras naciones en la protección de los ecosistemas situados en las zonas fronterizas.
Resolución 1023 del 28 de abril de 1997	Por la cual se dictan disposiciones sobre la distribución, comercialización y venta de insumos agropecuarios, material genético animal y semillas para siembra.
Decisión Andina 436 de 1998. (11 de junio de 1998, Lima - Perú)	Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola
Resolución 630 – 2002. Norma Andina	Por la cual se adopta el Manual Técnico de la Norma Andina para Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola.
Decreto 1443 DE 2004. MAVDT: Residuos de Plaguicidas:	Por el cual se reglamenta parcialmente el Decreto-ley 2811 de 1974, la Ley 253 de 1996, y la Ley 430 de 1998 en relación con la prevención y control de la contaminación ambiental por el manejo de plaguicidas y desechos o residuos peligrosos provenientes de los mismos, y se toman otras determinaciones.
Ley 1196 de 2008. El Congreso de Colombia.	Por medio de la cual se aprueba el Convenio de Estocolmo para el control de los Contaminantes Orgánicos Persistentes, firmado el 23 de mayo de 2001.
Decisión Andina 684 de 2008.	Modificación de la Decisión 436 (Norma Andina para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola.
Resolución 1442 del 14 de agosto de 2008	Por la cual se establece el procedimiento para la expedición del Dictamen Técnico Ambiental al que alude la Norma Andina para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola, Decisión 436, de la Comisión de la Comunidad Andina, y se toman otras determinaciones.
Ley 1159 de 2009	Por medio de la cual se aprueba el Convenio de Rotterdam para la aplicación del procedimiento de consentimiento fundamentado previo a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos, objeto de Comercio Internacional.
Resolución 1442-2008:Control Plaguicidas	Por la cual se establece el procedimiento para la expedición del dictamen técnico-ambiental al que alude la Norma Andina para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola, Decisión 436, de

	la Comisión de la Comunidad Andina, y se toman otras determinaciones.
Resolución 0127-2009: Dictamen Técnico ambiental.	Por la cual se emite un Dictamen Técnico Ambiental para el producto formulado ATRAZINA 900 WG-DVA, a partir del ingrediente activo grado técnico ATRAZINA, dentro del trámite administrativo de registro de plaguicidas químicos de uso agrícola.
Auto No. 3216-2011	“Por el cual se inicia trámite administrativo de obtención de Dictamen Técnico Ambiental en el marco del proceso de Revaluación para el producto formulado ATRAZINA 80% INVESA del ingrediente activo ATRAZINA y se adoptan otrasdecisiones”.

Las últimas reglamentaciones de la tabla anterior muestran como ya en Colombia se permite emitir dictámenes técnicos para la atrazina y su forma de producción y comercialización, lo que significa que en varias zonas del país la venta de este herbicida es legal (ICA, 2012).

## 2.2 SUSCEPTIBILIDAD DE LOS ANUROS A LA ATRAZINA

Son numerosas las publicaciones sobre el conocimiento del ciclo de vida bifásico que presentan los anuros; teniendo en cuenta que sus huevos no tienen cáscara y su piel es un órgano expuesto y altamente permeable (Stebbins & Cohen, 1997), estos organismos son muy susceptibles a la contaminación del medio y presentan complicados patrones de respuesta. Además, es importante destacar su gran diversidad morfológica y su presencia en la mayor parte de ecosistemas dulceacuícolas y terrestres, lo que amplía un abanico de posibles efectos para muchas especies, causados por la introducción de agroquímicos en estos hábitats (Rohr & Crumrine, 2005).

Según revisión de Mann *et al.* (2009), existen tres amplias categorías para identificar el declive de poblaciones de anfibios a nivel mundial: 1. La sobre explotación de ecosistemas; 2. Declives relacionados con varios factores como, infecciones fúngicas (Chytridiomycosis), introducción de especies, cambio climático y un grupo

de otras causas desconocidas o combinación de las anteriores, y 3. Aquellos declives asociados con especies de tierras bajas por pérdida de hábitat o modificación de los mismos.

Estos mismos autores han determinado que la agricultura, dentro de la última categoría, es la actividad que consume la mayor cantidad de tierra, influyendo en la pérdida de hábitats y en la supervivencia de un gran número de especies de anuros, que dependen de condiciones óptimas en los ecosistemas usados, muy cercanos a los lugares de intervención agrícola. En este caso, un factor de incidencia y daño para las especies de anuros, producto de esta actividad, es la emisión de residuos de herbicidas, que debido a sus características fisicoquímicas ha permitido a muchos investigadores encontrar susceptibilidad a estas sustancias en algunas especies de anuros de zonas templadas, donde en las últimas décadas se han dedicado más detalladamente a su evaluación toxicológica (Solomon *et al.*, 2008; Fournier *et al.*, 2000).

La atrazina también puede ser clasificado como un disruptor endocrino, lo que significa que tienen la capacidad de afectar el sistema endocrino, que se compone de las glándulas endocrinas que segregan hormonas que controlan el crecimiento, el desarrollo, la conducta y la sexualidad (Hayes *et al.*, 2002a; Hayes *et al.*, 2002b; Hayes, 2004; Hayes, 2005), como también tener efectos sobre el sistema inmune y la organogénesis, entre otros (Rohr & McCoy, 2010).

Por ello tomamos parte de esas investigaciones para reportar datos relacionados específicamente con aspectos como: reproducción, inmunología y organogénesis.

#### ***EFFECTOS EN LA REPRODUCCIÓN:***

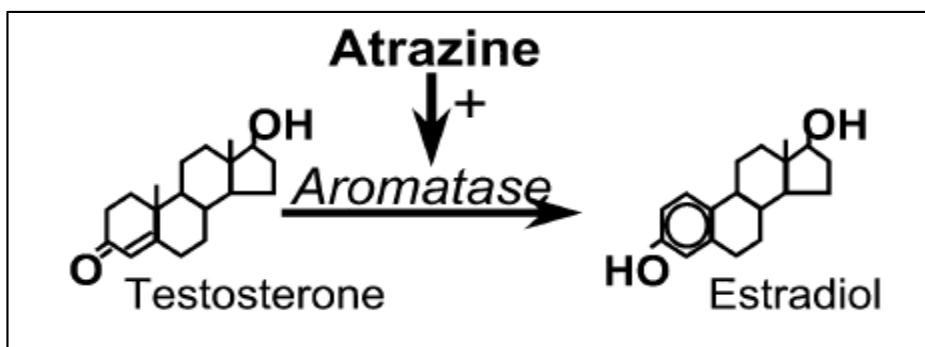
Como en otros grupos de vertebrados, en los anuros la reproducción es una capacidad fisiológica controlada hormonalmente y su potencial debe estar dirigido

a mantener la especie y por ende su supervivencia; cualquier disrupción relacionada con este proceso y sus órganos asociados puede disminuir su potencial reproductivo y amenazar la especie en sus hábitats naturales, sobre todo en la determinación del sexo, ya que este grupo presenta reproducción sexual y para su éxito se esperaría una proporción adecuada de machos y hembras.

Uno de los autores más dedicados en los últimos años a la evaluación del efecto ecotoxicológico de la atrazina en la reproducción de anuros ha sido Tyrone Hayes, de la Universidad de California, Berkely, USA (Hayes *et al.*, 2009; Hayes, 2005; Hayes *et al.*, 2002). Este investigador acompañado por varios coautores más, ha demostrado en sus estudios el efecto nocivo que tiene a nivel reproductivo algunas dosis de este herbicida, las cuales están inclusive por debajo de las permitidas por la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

Los estudios demuestran que la atrazina afecta al gen que produce la enzima aromatasa. Esta enzima es fundamental en el desarrollo de la hormona femenina estrógeno, que induce la ovogénesis y la vitelogénesis (Jamieson, 2003; Gilbert, 2005). Debido a que esta enzima influye en la producción de estrógenos en vertebrados, puede regular gran parte del proceso reproductivo en especies de anuros (Jamieson, 2003) y convertirse en un disruptor endocrino de efectos irreversibles (figura 7).

**Figura 7:** Mecanismo de acción de la atrazina en la inducción de la aromatasa y conversión de testosterona en estradiol (hormona femenina) en especies de anfibios.



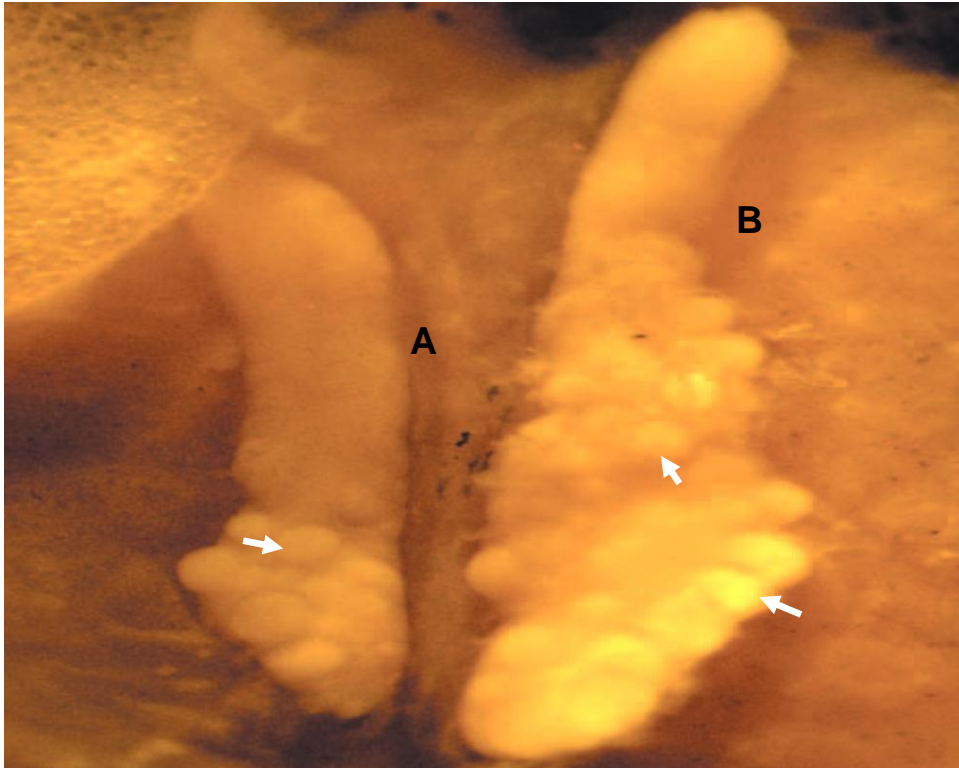
Fuente: Hayes (2004).

Cuando las ranas machos están expuestas a bajos niveles de la atrazina (entre 0,01-200 ppb), la testosterona disminuye sus niveles o se convierte en estrógenos durante el desarrollo, lo que conduce a la feminización de los machos (Hayes *et al.*, 2009).

En trabajos realizados también por Hayes *et al.* (2002), se examinaron los efectos de la atrazina en el desarrollo sexual en las ranas africanas (*Xenopus laevis*) y en rana leopardo *Rana pipiens*. Las larvas fueron expuestas a la atrazina (0,01 a 200 ppb) por inmersión en todo el desarrollo larval, y se examinó la histología gonadal y el tamaño de laringe en metamorfosis. La atrazina (> 0,1 ppb) indujo hermafroditismo y demasculinización de la laringe de los machos expuestos (> 1,0 ppb).

Se examinaron los niveles plasmáticos de testosterona en machos sexualmente maduros; se encontró que los machos de *Xenopus laevis* sufrieron una disminución de 10 veces en los niveles de testosterona cuando se expusieron a 25 ppb de atrazina. Estos autores proponen que la atrazina puede inducir la aromatasa lo cual resulta en la disminución de los andrógenos/testosterona (sustrato de la aromatasa) por lo que se pierden características masculinas de las larvas como disminución del tamaño de la laringe, inactividad en el desarrollo testicular y también inducción de ovarios como resultado del aumento de la síntesis y secreción de estrógenos, como sucedió en los especímenes tratados (Hayes, *et al.*, 2002: Hayes, *et al* 2009) (Figura 8 y 9).

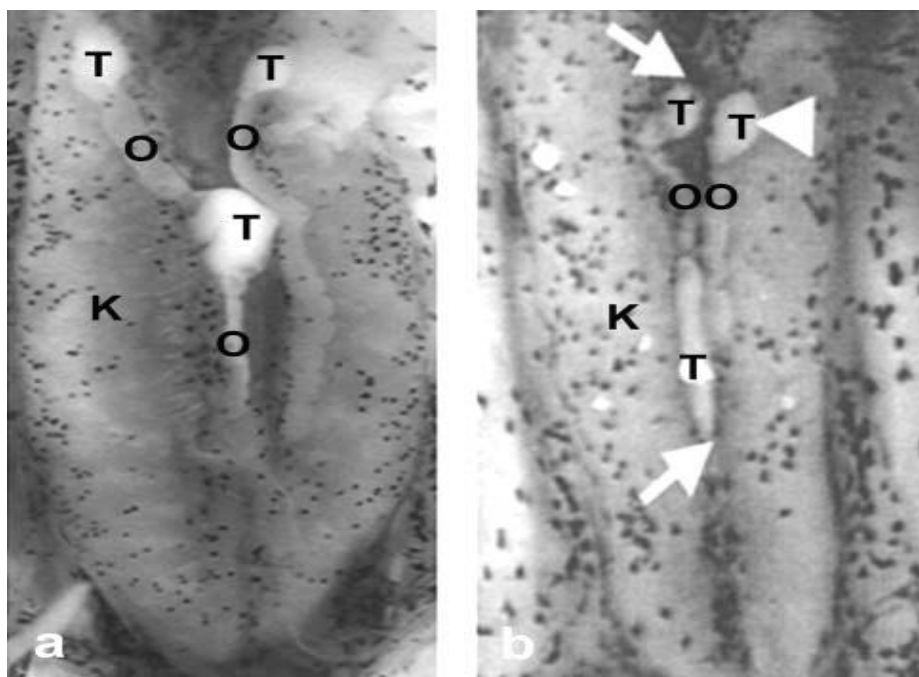
**Figura 8.** Gónadas (testículos: **A-B**) de un macho de rana leopardo (*Rana pipiens*) expuesto a 0,1 ppb de atrazina. Se evidencia la aparición de ovocitos vitelogénicos (flechas) en la superficie posterior de los testículos.



Fuente: Hayes *et al.* (2002).

Otros trabajos contemporáneos a los de Hayes (tabla 5), muestran también varios resultados que identifican a la atrazina como un compuesto que dificulta el buen desarrollo y actividad gonadal en varias especies de ranas. Por tanto estos autores llaman la atención sobre este compuesto debido a que las exposiciones naturales de este agroquímico podrían afectar otras especies de anfibios y poner en riesgo el desarrollo sexual por alteraciones endocrinas, ya que es muy difícil que individuos afectados de esta forma, inducidos al hermafroditismo (Figuras 8, 9) y afectados durante su diferenciación sexual (Tavera *et al.*, 2002) puedan desempeñarse y mantener seguro el éxito reproductivo de la población, llevando así a este grupo a un declive escalonado.

**Figura 9:** Evidencia de hermafroditismo en especímenes de *Xenopus laevis* expuestos a atrazina. Se observan los riñones (K), y la presencia de varios testículos (T) y múltiples ovarios (O) en un mismo individuo maduro.



Fuente: Hayes *et al.*(2002).

**Tabla 5.** Reportes de trabajos que asocian el efecto de la atrazina sobre el sistema endocrino, inmunológico y la organogénesis de algunas especies de anuros y salamandra\*. Se resaltan las concentraciones usadas en cada tratamiento.

SISTEMA ENDOCRINO / ACTIVIDAD REPRODUCTIVA		
Efecto de las concentraciones	Especies	Referencias
La exposición a concentraciones menores a <b>0.1ppb</b> produjeron en ranas de <i>Xenopus laevis</i> efectos negativos sobre el desarrollo gonadal como poligonadismo en machos (varios testículos hasta 6 en algunos casos) y hermafroditismo (desarrollo de múltiples combinaciones de testículos y ovarios en un mismo individuo). Esto posiblemente por disrupción en la esteroidogénesis.	<i>Xenopus laevis</i>	Hayes <i>et al</i> (2002a-b) Hayes <i>et al.</i> (2006)
Concentraciones de atrazina entre <b>1 y 100 µg/L</b> tuvieron una correlación positiva con la síntesis de aromatasa y hormona esteroide en renacuajos premetamórficos de <i>Rana catesbeiana</i> , que podrían influir en la determinación del sexo y el desarrollo sexual de los individuos.	<i>Rana catesbeiana</i>	Gunderson <i>et al.</i> (2011)

<p>Renacuajos de <i>Xenopus laevis</i> expuestos a <b>21 µg</b> de atrazina durante 48 horas durante la diferenciación sexual, influyó en una reducción del 57% en el volumen testicular, reducción en un 70% de espermatogonias, reducción en un 74 % de las células de sertoli, con una resorción y aplasia testicular del 10%.</p> <p>Además en experimentos similares se evidenció para el caso de los ovarios una reducción del 20 % en oogonios primarios y secundarios por causa de atresia, lo cual podría disminuir la actividad o viabilidad reproductiva de los individuos.</p>	<p><i>Xenopus laevis</i></p>	<p>Tavera <i>et al.</i> (2002a-b)</p>
<p>La exposición de larvas de <i>Xenopus laevis</i> a <b>25µg/L</b> de atrazina influyó en unos pocos individuos (&lt; 5%) afectando el desarrollo gonadal evidenciado en anomalías (presencia de características intersexuales/ovarios y testículos). Las concentraciones bajas de atrazina no afectaron significativamente la proporción de sexos ni el desarrollo dimórfico de la laringe.</p>	<p><i>Xenopus laevis</i></p>	<p>Carret <i>et al.</i> (2003)</p>
<p>Embriones de <i>Rana clamitans</i> fueron expuestos a tratamientos con atrazina a concentraciones de <b>10 a 25 µg/L</b>, hasta completar su metamorfosis, Se detectó a nivel gonadal anomalías relacionadas con discontinuidad gonadal caracterizada por segmentación anormal del tejido gonadal, múltiples testículos e irregularidad en el tamaño contrastante entre gónadas pares (inusualmente grandes y pequeñas).</p>	<p><i>Rana catesbeiana</i></p>	<p>Coady <i>et al.</i> (2004)</p>
<p>Renacuajos de <i>Rana pipiens</i> fueron expuestos en charcas artificiales a concentraciones de atrazina entre <b>0.1 y 1.8 µg/L</b> para identificar efectos sobre la diferenciación gonadal y la proporción de sexos. Se encontró que las concentraciones de atrazina en los tratamientos de 1.8 µg/L produjo un 20% más de hembras que el tratamiento control y se encontró que los renacuajos de este tratamiento aumentaron la producción de Aromatasa al analizar la expresión génica del factor Cyp19 que convierte la testosterona en estradiol y logra alteración en las gónadas lo cual se observó en diferencias significativas en la proporción de sexos (más hembras que machos que el control y otros tratamientos).</p>	<p><i>Rana pipiens</i></p>	<p>Langlois <i>et al.</i> (2010)</p>

<b>SISTEMA INMUNOLÓGICO</b>		
La exposición a la atrazina ( <b>21 ppb</b> ) durante 8 días, afectó la respuesta inmune innata en ranas adultas de <i>Rana pipiens</i> , suprimiendo la producción de linfocitos de la cavidad peritoneal y además disminuyó la actividad fagocítica de estas células.	<i>Rana pipiens</i>	Brodkinet <i>al.</i> (2007)
Disminución en la producción de células linfocíticas productoras de anticuerpos al aumentar las concentraciones de atrazina.	<i>Rana pipiens</i>	Houck&Sessions. (2006)
Renacuajos de <i>Rana sylvatica</i> fueron expuestos a concentraciones de trazina entre <b>3 y 30 µg/L</b> . Se encontró que el estrés causado por el compuesto disminuyó la producción de eosinófilos (glóbulos blancos) en la sangre y aumentó la infección y enquistamiento de trematodos cercarios ( <i>Ribeiroiasp</i> y <i>Telorchissp</i> ) y consecuente aparición de deformidades en los miembros.	<i>Rana sylvatica</i>	Kiesecker. (2002)
La exposición de renacuajos de <i>Xenopus laevis</i> a 400 ppb ( <b>400 µg/L</b> ), afectó considerablemente la expresión de varios genes relacionados con alteraciones fenotípicas en crecimiento y metabolismo, proteólisis y regulación del sistema inmune. Para este último efecto, se detectó que siete genes asociados con la función del sistema inmune, específicamente moléculasde defensa presentes en la piel(por ejemplo, magainina II, levitide A, preprocarulein, proteína de los gránulos de la piel), fueron significativamente no regulados en su expresión en renacuajos hembra de esta especie.	<i>Xenopus laevis</i>	Langerveld <i>et al.</i> (2009)
Huevos y larvas de salamandra <i>Ambystoma tigrinum</i> fueron expuestas a concentraciones de atrazina de <b>0, 1.6, 16, y 160 µg/L</b> . Se encontró que la atrazina causa disminución en los leucocitos de sangre periférica y susceptibilidad a infección por virus en los individuos después de varias semanas de tratamiento.	<i>Ambystoma tigrinum</i> *	Forson &S torfer (2006)
<b>ORGANOGENESIS</b>		
La exposición de huevos y embriones de <i>Xenopus laevis</i> a atrazina en concentraciones de <b>10, 25 y 35 µg/L</b> , mostró diversas anomalías en la organogénesis de esta especie como deformidades en corazón, hemorragia visceral en diferentes lugares (riñones, cola, cavidad abdominal y periferia cardiaca). Además se encontró anomalía intestinal relacionada con la	<i>Xenopus laevis</i>	Lenkowski <i>et al.</i> (2008)

rotación y reducción en el tamaño, al comparar los especímenes tratados con atrazina y los individuos control.		
Larvas de <i>Hyla versicolor</i> ubicadas en varias charcas artificiales fueron expuestas a concentraciones de atrazina de <b>20, 200 y 2,000-µg/L</b> para analizar los efectos de este compuesto sobre el crecimiento y la supervivencia. Se encontró que las ranas de las concentraciones más altas de atrazina tenían menor longitud y menor peso corporal que los otros tratamientos y el tiempo de desarrollo metamórfico fue mayor en las ranas que estaban en los tratamientos con concentraciones mayores.	<i>Hyla versicolor</i>	Diana <i>et al.</i> (2000)
El contagio por parásitos, después de la exposición a la atrazina, indujo la aparición de malformaciones en los miembros de <i>Rana sylvatica</i> .	<i>Rana sylvatica</i>	Kiesecker. (2002)

#### **EFFECTOS EN LA ACTIVIDAD INMUNOLÓGICA**

El sistema inmunológico tal como ha evolucionado en los vertebrados, incluyendo los anfibios, protege al huésped de infecciones por patógenos ambientales y de fuentes xenobióticas, entre otras funciones (Rollins *et al.*, 2004). El sistema inmune de los anfibios es muy similar al de especies de mamíferos. Los anfibios tienen células linfocíticas T y B, su sistema inmune innato incluye células fagocíticas y células asesinas naturales, que facilitan el reconocimiento y análisis de determinadas moléculas (Cary *et al.*, 1999).

La evaluación de la respuesta inmune innata se constituye en una de las estrategias de seguimiento y evidencia de la alteración en la capacidad de respuesta frente a patógenos, por lo cual se sugiere, como se ha hecho en diversos estudios relacionados con compuestos xenobióticos, examinar la actividad del sistema inmune innato como un biomarcador de respuesta a exposición (Rollins *et al.*, 2004). Esto es significativo dado que los efectos de los pesticidas en el medio acuático no sólo son importantes por la mortalidad que puedan causar de manera directa, sino por una diversa gama de disturbios neuroendocrinos y disminución de la resistencia

a patógenos oportunistas que pueden estar en el medio y que interdependen de complejas relaciones bióticas (Hua & Relyea, 2012), inclusive afectar las relaciones tróficas con otras especies como fitoplancton necesarias para la supervivencia de este grupo de anfibios (Diana *et al.*, 2000; Hua & Relyea, 2012).

Aunque se pensaba que la atrazina era poco nociva para los anuros a bajas concentraciones, además de lo reportado por Hayes *et al.* (2002,2003) y otros autores como Gunderson *et al.* (2011) y Langlois *et al.* (2010), se encontró que concentraciones bajas alteran la actividad gonadal, diferenciación sexual y sucesos metamórficos (Tabla 5); Storr & Kiesecker. (2004) también pudieron detectar que bajas concentraciones de atrazina (3 ppb comparadas con otros experimentos a 30 y 100 ppb) habían influido en la supervivencia de larvas de anfibios de las especies *Pseudacris crucifer* y *Rana clamitans*, en las cuales más del 60 % de las larvas de estas especies murieron a concentraciones menores de 30 ppb, lo que deja una inquietud para revisar los efectos sobre otros sistemas como el inmunológico en especies de anuros (Allran & Karasov, 2001) y también como lo hicieron Forson & Storfer (2006) en una especie de salamandra (*Ambystoma tigrinum*), en cuyo estudio encontraron que este compuesto tenía efectos inmunosupresivos y aumentaba el contagio con ranavirus (ver tabla 6).

Rohr & McCoy (2010), recopilaron información similar de varios trabajos realizados con especies de anfibios en los cuales se buscaba evidenciar los efectos de la atrazina en aspectos fisiológicos de estos grupos como por ejemplo desarrollo metamórfico y crecimiento, comportamiento y actividad locomotora, disrupción endocrina y disrupción en la capacidad inmune y su predisposición a infecciones.

Sobre el sistema inmunológico y el posible efecto de este compuesto, los análisis a los trabajos revisados por Rohr & McCoy (2010), revelaron que la exposición a la atrazina reduce consistentemente el funcionamiento inmune de peces y anfibios,

con 16 de 18 estudios que muestran efectos a concentraciones ecológicamente relevantes. Algunos trabajos se muestran en la tabla 5.

Se cree que diferentes concentraciones de atrazina afectan el sistema inmune de anuros, interfiriendo con su capacidad para afrontar o reprimir agentes infecciosos, aumentando la susceptibilidad de estos (Houck & Sessions, 2006). Por ejemplo, la exposición a la atrazina (21 ppb para el 8 día de desarrollo) afectó la respuesta inmunológica innata de los adultos de *Rana pipiens* (Houck & Sessions, 2006). La exposición a la atrazina suprimió la aparición de glóbulos blancos en la sangre en la cavidad del peritoneo y también disminuyó la actividad de fagocitosis de estas células.

Aunque la exposición a la atrazina no fue mortal para las ranas (estudio anterior), sí se evidenció una disrupción inmunológica, lo cual puede traer como consecuencia la susceptibilidad a ciertos patógenos infecciosos como trematodos y hongos (Houck & Sessions, 2006). Similar a este caso está el encontrado por Kiesecker (2002) en *Rana sylvatica* en la que el estrés causado por la exposición a plaguicidas (entre ellos la atrazina) disminuyó en los renacuajos la capacidad de resistir infecciones de trematodos resultando en aumento de las cargas parasitarias y mayor riesgo de deformidades en las extremidades.

Un trabajo pertinente sobre la forma como la atrazina afecta la expresión de genes reguladores de la actividad inmune en anuros fue el realizado por Langerveld *et al.* (2009), con evidencia de efectos variados en la regulación inmunológica afectando la producción de moléculas participantes en fenómenos fisiológicos defensivos de estos organismos (tabla 5); los resultados sustentan una vez más que la atrazina contamina ambientalmente y puede comprometer importantes vías de expresión génica e interrumpir fenotípicamente el desarrollo de especies de anuros y por ende llevar a su declive regional o global.

### ***EFEECTO EN LA ORGANOGÉNESIS***

Adicionalmente a los efectos endocrinos relacionados con la actividad reproductiva e inmunológica de la atrazina en especies de anuros, es muy relevante registrar igualmente estudios de caso donde este compuesto también afecta directamente la organogénesis durante la metamorfosis en especies con este patrón de desarrollo.

Los efectos de la contaminación acuática con atrazina sobre anfibios se manifiesta también en anomalías y bajas tasas de desarrollo de embriones y renacuajos, que pueden traducirse en mortalidad de los individuos (Storr & Kiesecker; Carret *al.*, 2003), ver tabla 5.

Algunos investigadores de este grupo de vertebrados aseguran que en general, los huevos y las larvas de anfibios son más sensibles que los adultos a la contaminación acuática (Greulich & Pflugmacher, 2003). Sin embargo, otros autores han encontrado que a pesar de que los huevos y larvas de anfibios quedan expuestos al medio ambiente sin cuidado parental en su mayoría, han desarrollado algunas estrategias posiblemente de adaptación para evitar los problemas que afectan su supervivencia en etapas tempranas del desarrollo (Duellman & Trueb, 1994; Kiesecker, 2002; Hamdoun & Epel, 2006).

Por ejemplo, Hamdoun & Epel (2006), hacen un trabajo de revisión sobre algunas estrategias de protección de este grupo, como aceleración en el desarrollo y aumento en la tasa de división celular en las células indiferenciadas y almacenamiento de altos niveles de defensas celulares en el huevo antes de la liberación en el medio ambiente o la exposición al estrés, que posiblemente no hacen parte de la programación genética del desarrollo embrionario, pero se integran a este de forma independiente para protección de los embriones y larvas. No obstante, estos autores concluyen que a pesar de las evidencias de estrategias

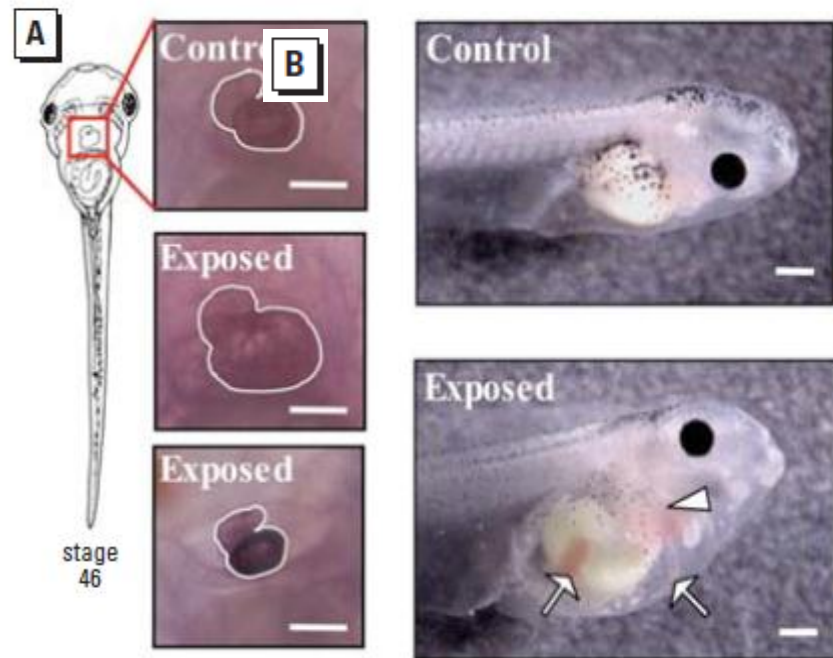
de adaptación para protección, es preocupante que los rápidos cambios antropogénicos en el medio ambiente están más allá del alcance de estos mecanismos de protección.

La metamorfosis en los anuros es un proceso determinante dentro del desarrollo para especies que tienen esta etapa en ambientes acuáticos, ya que las transformaciones y cambios ocurridos aquí, preparan al organismo para la existencia terrestre, gracias a mecanismos hormonales muy precisos (Stebbins & Cohen, 1997).

Varios estudios han encontrado que las bajas concentraciones de herbicidas en la naturaleza producto de su residualidad, aunque parecen tener efectos ecológicos subletales, pueden inducir a situaciones de alteración e inhibiciones fisiológicas y morfológicas durante el desarrollo embrionario y metamorfosis en estas especies no blanco (Allran & Karasov, 2001), con efectos teratogénicos permanentes.

Dos de los mayores daños fenotípicos observados en renacuajos de *Xenopus laevis* expuestos a varias concentraciones de atrazina fueron malformaciones cardíacas y hemorragias viscerales con atrofas intestinales (Lenkowski *et al.*, 2008 Figura 10A y 10B).

**Figura 10.** Incidencia de malformaciones cardíacas (A) y hemorragias viscerales (B) en larvas de *Xenopus laevis* expuestas a diferentes concentraciones de atrazina.



Fuente: Tomado y modificado de Lenkowski *et al* (2008).

Otra evidencia de malformaciones fenotípicas en anuros afectados por atrazina son las de extremidades (Figura 11), las cuales tienen una variedad de signos que se han encontrado tanto en ambientes naturales como en pruebas toxicológicas de laboratorio (Kiesecker, 2002). Entre estas se encuentra algunas que han permitido identificar situaciones anormales en su capacidad de desplazamiento y anti depredadora en especies como *Rana pipiens* (Figura 11).

**Figure 11.** Especímenes de *Rana pipiens* con malformaciones en miembros, producto de concentraciones de agroquímicos en medios naturales.



Fuente: <http://amphibiaweb.org/declines/deformities.html>

Algunas variantes de estas malformaciones se presentan en la tabla 6, basadas en trabajos realizados con especímenes de *Rana sylvatica*, permitieron determinar el sinergismo entre la exposición a pesticidas (atrazina y malathion) y la infección con trematodos, que podría influir en la aparición de malformaciones organogénicas (Kiesecker, 2002) y por tanto afectar el comportamiento de los individuos en su actividad natural.

**Tabla 6.** Anormalidades morfológicas en *Rana sylvatica* expuesta a atrazina y malathion.

ANORMALIDADES	DESCRIPCIÓN
Ectrodactilia	Ausencia de dedos
Polidactilia	Dígitos extra
Apodia	Ausencia de miembros.
Polipodia	Presencia de miembros supernumerarios
Ectromelia: -simétrica -asimétrica	Falta o el desarrollo defectuoso de uno o varios miembros.
Micromelia	Acortamiento de miembros.

Fuente: Kiesecker.(2002).

### 2.3 CONSECUENCIAS DEL IMPACTO DE LA ATRAZINA EN ESPECIES DE ANUROS NEOTROPICALES Y OTRAS.

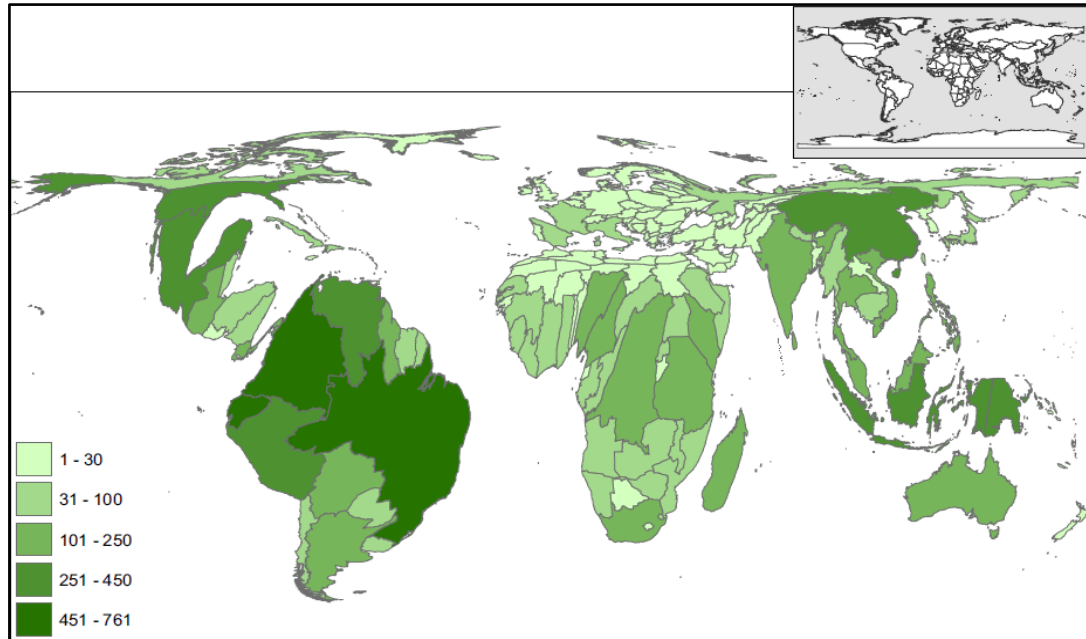
El declive y desaparición de poblaciones de anfibios ha sido reportado en varias partes del mundo (Blaustein & Kiesecker, 2002; Stuart *et al.* 2004). Evidencias de

estos hallazgos fueron discutidas inclusive desde 1989 en el primer congreso de herpetología en Canterbury-Inglaterra, lo que inquietó a un conjunto de científicos de esta disciplina, sobre todo porque aunque se sospechaba de algunas causas como sobreexplotación de recursos forestales, fragmentación y disminución de hábitat, algunas poblaciones sobre todo para Centro América y Sur América habían iniciado un declive de forma alarmante y por causas bastante enigmáticas (Stuart *et al.*, 2004).

La mayor información con respecto a América Latina proviene de trabajos realizados en Costa Rica, Panamá, Ecuador y Puerto Rico, entre otros. Según los anteriores autores muchos de estos trabajos ilustran el estado crítico de los anfibios en América Latina y demuestran que existen algunos elementos comunes en los patrones de disminuciones poblacionales de anfibios en la región, pero se requieren estudios con urgencia en la determinación de eventos precisos que influyen en su declive.

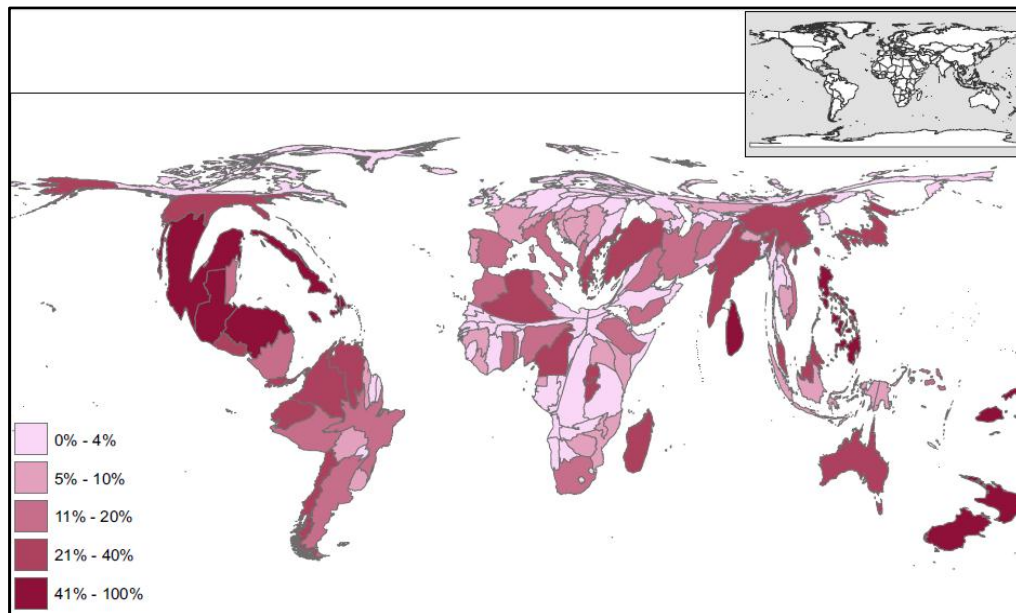
La región neotropical es la más biodiversa del mundo en cuanto a especies de anfibios (Wake & Vredenburg, 2008) y a la vez presenta los países con gran proporción de especies en las tres categorías de amenaza: En peligro Crítico, En Peligro y Vulnerable (figuras 12 y 13). Sumado a esto hay pocos estudios con respecto a los efectos ecotoxicológicos de agroquímicos de alto impacto en los ciclos de vida de estas especies neotropicales.

**Figura 12.** Diversidad global de especies de anfibios por país, usando ecualización de cartogramas. Se detalla las regiones más pronunciadas en coloración, indicando los países con las mayores cantidades de especies, como Brasil, Colombia y México en el neotrópico y China en el viejo mundo.



Fuente: M. Koo. En: Wake & Vredenburg.(2008).

**Figura 13.** Porcentaje de fauna anfibia en cada país en las categorías de amenaza (*En Peligro Crítico, En Peligro y Vulnerable*).



Fuente: M. Koo. En: Wake & Vredenburg. (2008).

En el Neotrópico, Colombia es catalogada como uno de los países más ricos en anfibios (Ruiz *et al.*, 1996; Acosta, 2000) y dentro de esta clase los anuros constituyen un grupo biodiverso que aporta datos importantes de la anurofauna colombiana (Lynch *et al.*, 1997).

Los estudios relacionados con los anfibios en Colombia han mostrado importantes resultados desde sus inicios, permitiendo conocer aportes a su distribución y biodiversidad (Ruiz *et al.*, 1996), con datos particulares que permiten inferir en que la riqueza de especies de anuros presentes en el país se debe en parte a la gran diversidad de hábitats existentes como resultado de la variedad de condiciones geográficas, climáticas y orográficas (Lynch *et al.*, 1997). Sin embargo, la necesidad de estudios sobre su conocimiento natural y ecológico detallados, son urgentes, sobre todo para identificar las posibles amenazas a que son expuestos en sus hábitats naturales, recomendados desde hace tiempo por expertos en el tema (Rueda *et al.*, 2004; Rueda, 1999; Lynch & Grant, 1998).

Según el libro rojo de los anfibios de Colombia (Rueda *et al.*, 2004) y comparando con otros países neotropicales, las causas generales de declive y amenaza de las poblaciones de anuros colombianos está referida a los efectos de la fragmentación, la radiación ultravioleta y cambios de temperatura drásticos, introducción de especies y a la contaminación atmosférica y terrestre.

Las disminuciones de especies se han detectado en diferentes partes del país y con la ayuda de varios autores que integraron el grupo de trabajo del libro rojo de anfibios, se encontraron datos provechosos de la situación de este grupo. Sin embargo, la información escasa y limitada no permite obtener referencias de casos de poblaciones amenazadas por agroquímicos (solo los mencionan como posible fuente de contaminación por actividad agrícola), lo cual deja un vacío evidente sobre el posible efecto el declive de las poblaciones naturales.

Varios países suramericanos han reportado sobre extinciones o disminución abrupta de poblaciones de anuros durante los últimos 20 años (Wake & Vredenburg, 2008). Una de las posibles causas adicionales del declive de anuros en el neotrópico y a la cual le han estado dedicando atención los científicos en los últimos años, es la propagación del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y que parece crecer más en zonas húmedas, por lo que es una alerta en países tropicales de hábitats montañosos y húmedos de centro y sur América (Lipset *et al.*, 2005).

Para Colombia Velásquez *et al.* (2008), presentan uno de los primeros reportes de infección por el hongo quitidrio en anuros de cuatro localidades del Valle del Cauca, donde se presentaron casos de mortalidad en masa, disminución y desaparición de anfibios. De los 466 individuos analizados, 22 individuos pertenecientes a 16 especies resultaron positivos para la infección con el hongo.

Mucho antes a estos hallazgos, Lynch & Grant (1998) en visitas a campo en la región de la Serranía de los Paraguas (ladera occidental de la cordillera occidental-frontera entre los departamentos de Valle y Chocó) durante un mes de julio de 1997, descubrieron decenas de individuos pertenecientes a 7 especies de anuros muertas y moribundas, de lo cual hasta ese momento las explicaciones eran controvertidas y confusas, ya que el tiempo de colección fue muy corto y se presentaba una época de sequía extrema, lo que impidió tener una conclusión precisa si se trataba de algún contaminante, ya que la explicación más cercana era efecto de la época pues después de un tiempo se volvió a encontrar normalidad en la zona.

Lo que plantean los participantes del libro rojo de anfibios de Colombia, en la sección “*situación actual y amenazas*”, son posibles causas de la disminución de algunas poblaciones, inclusive varias que ya están totalmente desaparecidas de su área de distribución conocida (Rueda *et al.*, 2004). En los textos referentes a esta situación, se habla de causas como: extracción frecuente y fragmentación escalonada de los bosques, actividades agropecuarias como quemadas y pastoreo de ganado,

introducción de especies acuáticas como la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) entre otras, colonización urbana y uso de agroquímicos en cultivos tradicionales e ilícitos. Sin embargo en estos últimos casos son pocos los autores que mencionan esta causa, inclusive únicamente el nombre agroquímicos, sin más detalle, lo que muestra que es una de las causas con mayor falta de estudio e identificación.

Para el caso de herbicidas, son nulos los trabajos directos relacionados con el efecto ecotoxicológico de la atrazina en especies de anuros neotropicales (a diferencia de países del Norte de América), aunque se mencionan datos sobre el impacto de esta sustancia en algunas especies de peces dulceacuícolas neotropicales como *Prochilodus lineatus* en Brasil (Santos & Martinez, 2012; Paulino *et al.*, 2012), los cuales mostraron efectos en el equilibrio iónico del plasma sanguíneo y en células branquiales, como también influencia en cambios bioquímicos y daños en el ADN de esta especie.

En otros casos similares, se establecieron datos del efecto nocivo a nivel celular de la atrazina en dos especies de peces *Caquetaia kraussii* y *Colossoma macropomum* en Venezuela (Segnini *et al.*, 2005), los estudios histológicos realizados mostraron alteraciones en los túbulos del riñón que incluían pérdida de plasmalema e interdigitaciones celulares, mitocondrias alteradas, disminución en el retículo endoplásmico, polisomas libres y la presencia de vacuolas autofágicas y lisosomas primarios. Estas alteraciones a nivel celular pueden explicar las afecciones en términos de patología de los túbulos del riñón y las cantidades relativas y condiciones de organelos dentro de las células afectadas, que aunque no sean letales preliminarmente, afectan la fisiología de las células y órganos relacionados.

Otro grupo analizado es el de reptiles, para este caso se investigó el efecto endocrino de pesticidas como atrazina y endosulfan sobre las posturas de *Caiman latirostris* en las provincias del Chaco y Entre Ríos en Argentina (Beldomenico *et al.*,

2007), se encontró que esta especie puede ser una centinela de la calidad del agua y sitios terrestres de oviposición de los caimanes de estas provincias, ya que se vio afectada la masa de los huevos y el desarrollo embrionario de los mismos.

No es conveniente extrapolar los resultados en especies de anuros de zonas templadas afectadas por la atrazina a especies tropicales, debido a que como es conocido las condiciones de temperatura, pluviosidad y de suelo pueden variar y además la atrazina podría tener una diferente forma de degradación en ambas zonas (Patiño, 2009; Fuentes *et al.*, 2008; Arbeli & Fuentes, 2007). Sin embargo, según los autores anteriores, la información obtenida de trabajos que evalúan la forma de degradación, el tiempo de residualidad de la atrazina en suelos y cuerpos de agua tropicales, puede ser útil para identificar posibles efectos en la fauna asociada a los tipos de hábitats cercanos a los campos agrícolas en donde este herbicida es descargado.

Los estudios o informes científicos más cercanos para Colombia con respecto a la atrazina, además de su producción y comercialización legal (nombrado anteriormente), han sido realizados por la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá, sobre el comportamiento, degradación y destino en el ambiente de este herbicida, analizado en varios suelos de los departamentos de Tolima, Valle del Cauca y Córdoba (Arbeli & Fuentes, 2010, Fuentes, 2008; Fuentes *et al.*, 2003).

Con base en el resultado del análisis de las muestras de campo (Fuentes *et al.*, 2003) se pudo detectar que la atrazina tiene una duración de hasta setenta días después de su aplicación, en concentraciones de 137 y 24,8 µg/Kg de suelo a los 37 y 70 días, respectivamente. Además, como compuestos derivados de la lenta degradación están los metabolitos deisopropilatrazina, y deetilatrazina que representan cantidades apreciables y podrían estar implicados en los residuos que evidencian poca capacidad de mineralización (total transformación) de la atrazina

en el suelo y por ende su posterior lixiviación hacia las fuentes de agua cercanos (Olarte *et al.*, 2008)

Por lo tanto según los estudios de Fuentes *et al* (2008), es importante saber que el uso inadecuado de este herbicida puede ocasionar acumulación de residuos y que debido a la amplia dispersión de estos en el ambiente se pueden generar daños a cultivos subsiguientes y efectos negativos sobre diferentes hábitats y especies; constituyendo de esta manera un riesgo crónico para el ambiente y la salud humana.

En Colombia no existe una legislación específica que regule las concentraciones de los plaguicidas (Máxima Concentración Permisible) en el suelo. En agua potable, la máxima cantidad permisible de plaguicidas está regulada por el decreto 475 de 1998 (artículos 11 a 15) dictada por el Ministerio de Salud.

Como mencionamos, los estudios asociados con el efecto de la atrazina sobre la anurofauna colombiana son nulos. Hay sin embargo, estudios relacionados con otros pesticidas como el insecticida clorpirifos, que afectó significativamente la tasa de crecimiento en las etapas iniciales y finales de la metamorfosis de *Smilisca phaeota* en una zona del departamento de Antioquia (Gallo *et al.*, 2006). Otro como el glifosato (mezcla de Roundup® SL – Cosmoflux® 411F) usado para evaluar el efecto tóxico y genotóxico de este compuesto en individuos de *Eleutherodactylus johnstonei* (especie no nativa) en Bucaramanga Colombia (Valencia *et al.*, 2011; Meza, 2011; Meza *et al.*, 2013), el cual también ha sido presentado como un posible compuesto de efectos considerables en la fauna anura colombiana (Solomon *et al.*, 2007; Lynch & Arroyo, 2009), sobre todo por las actividades asociadas a la erradicación de cultivos ilícitos (*Erythroxylum coca*) ya que se usa como sustancia para la inhibición del crecimiento en estas plantas.

Pero aunque no se tengan datos precisos del efecto de la atrazina en anuros colombianos, es urgente recopilar información sobre su aplicabilidad y degradación

en el suelo y en el agua en zonas tropicales, ya que se ha encontrado que su capacidad de movilidad y de degradabilidad puede determinar su potencial como contaminante (Arbeli & Fuentes, 2007; Fuentes, 2008), sin descartar la posibilidad de los bioensayos con este compuesto y su efecto en especies del país.

## **2.4 IMPORTANCIA DE LAS EVALUACIONES ECOTOXICOLÓGICAS EN ESPECIES DE ANUROS COLOMBIANOS**

Los anfibios son indicadores ambientales muy sensibles, los cuales están expuestos a diferentes tipos de sustancias (Chen *et al.*, 2007). Son animales que están en riesgo ecológico lo que quiere decir que tienen alta probabilidad de ponerse en contacto con sustancias químicas, debido a que parte de las especies habitan en pequeños cuerpos de agua asociados o inmersos en sistemas agrícolas (Stebbins & Cohen, 1997). Además sus modos reproductivos son variados y dependientes de cuerpos de agua superficiales en la mayoría de las especies (Duellan & Trueb, 1986; Stebbins & Cohen, 1995). Ver anexo 4 y figura 14.

Los plaguicidas como los herbicidas tienen un potencial de toxicidad que depende tanto de sus propiedades químicas, del tiempo de degradación en el suelo o agua como de las concentraciones ambientales (Fuentes, 2008). La exposición cada vez más frecuente de ecosistemas terrestres y acuáticos a contaminantes ambientales hace urgente y constante la aplicación de pruebas o bioensayos de toxicidad para evaluar no solo los efectos tóxicos a corto plazo directamente en los organismos (mortalidad), sino también los riesgos a los ecosistemas y efectos indirectos a especies naturales (Ramírez & Mendoza, 2008), como también los de largo plazo a través de pruebas genotóxicas (Meza *et al.*, 2013) que podrían repercutir en la permanencia de las poblaciones en los hábitats naturales.

Es importante destacar la importancia de los bioensayos en el control de la contaminación y la capacidad de éstos para valorar efectos sobre los organismos vivos, permitiendo establecer relaciones dosis-respuesta para un determinado compuesto químico (Ramírez & Mendoza, 2008). Según estas autoras, la posibilidad de estandarizar estos métodos hace que los resultados, obtenidos tras el cumplimiento de unos requerimientos específicos, sean comparables, repetibles y confiables. Los bioensayos permiten además medir directamente la biodisponibilidad y los efectos tóxicos aditivos, antagónicos y sinérgicos de los compuestos presentes en una mezcla compleja. Son métodos comparativamente más rápidos y de menor coste que otros estudios químicos y biológicos.

Históricamente, las evaluaciones de riesgo para la biota acuática han sido realizadas con ensayos de toxicidad, utilizando organismos sensibles como algunas especies de invertebrados, algas y de plancton, entre ellas especies del género *Daphnia* y para el caso de vertebrados son comunes las especies de peces gracias a su facilidad de trabajo y conocida biología general y fisiología bioquímica (Segniniet al., 2005; Ramírez & Mendoza, 2008). En contraste, el estudio de la incidencia de la contaminación en los anfibios, principalmente por el uso de pesticidas en las proximidades de los cuerpos de agua en donde éstos se reproducen, es de reciente incursión y ha sido encarado fundamentalmente en otros países (Thompson, 2004).

Los anfibios son catalogados por muchos autores como indicadores altamente sensibles del estrés ambiental, a causa de su piel permeable y de su ciclo de vida (Devillers & Exbrayat, 1992; Stebbins & Cohen, 1997). Es por este motivo que constituyen excelentes modelos experimentales para evaluar los grados de contaminación ambiental y los efectos de los agroquímicos sobre la tasa de mortalidad, las tasas de desarrollo y crecimiento y los cambios morfo-estructurales que pueden ocasionarse. Asimismo, resulta importante emplear estos organismos como modelos de estudio, teniendo en cuenta que en Colombia, la riqueza de

especies es alta (Ruiz *et al.*, 1996; Acosta, 2000) y la tasa de desaparición y actividades de amenaza a las poblaciones igualmente va en aumento (Rueda, 1999; Rueda *et al.*, 2004), lo que ha motivado a algunas entidades del gobierno en implementar nuevas propuestas de conservación hasta el punto de proponer listados de especies amenazadas de extinción según la UICN (MAVDT- en su momento, Resolución, 383 de 2010), muchas veces sin reportes detallados de sus causas como es el caso de estudios ecotoxicológicos para agroquímicos.

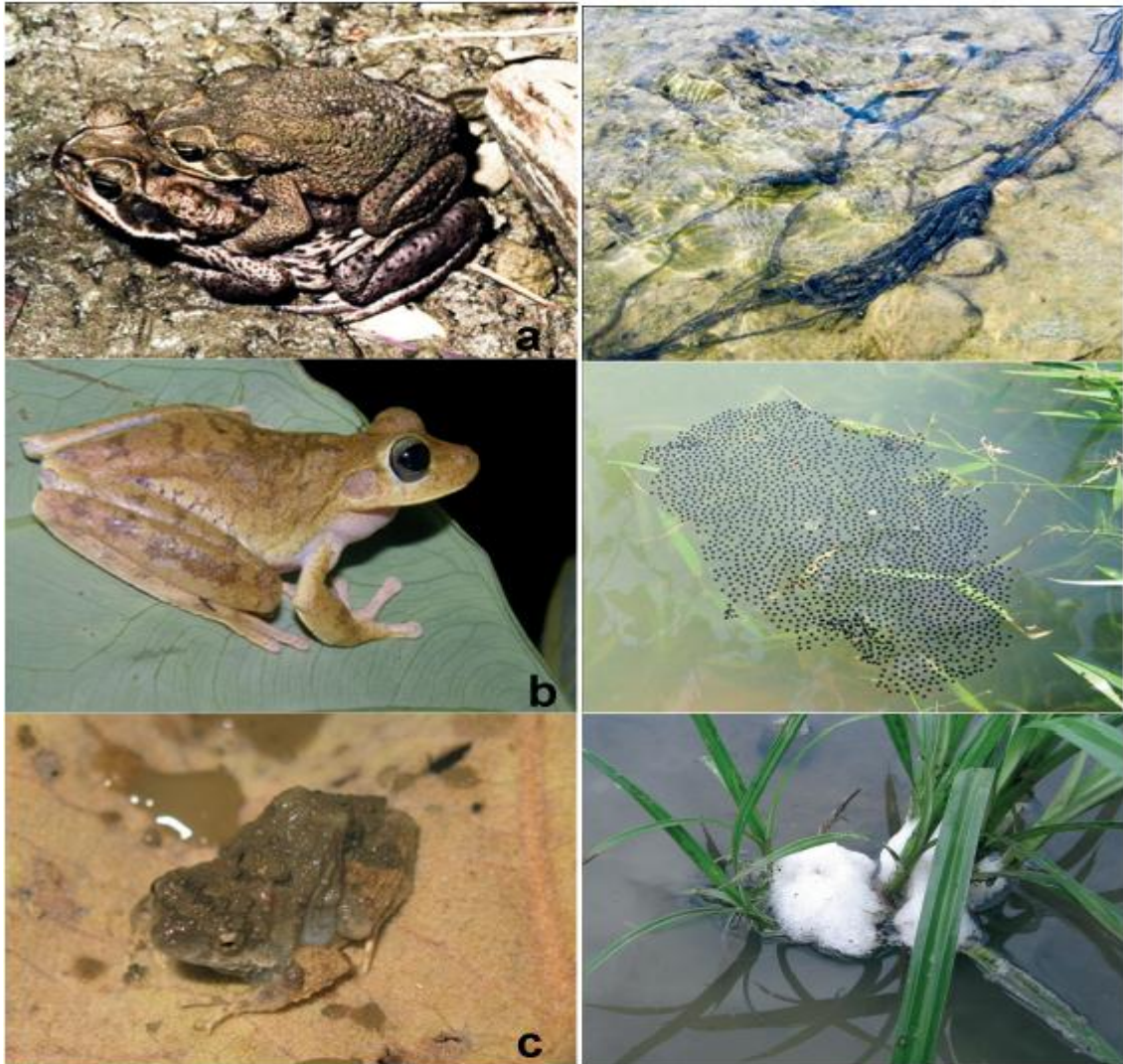
Izaguirre *et al.* (2006) mencionan que para la evaluación de la carga tóxica que pueden soportar los ambientes acuáticos se han desarrollado protocolos estandarizados por las organizaciones internacionales de regulación y control como la U. S. Environment Protection Agency (USEPA), la American Public Health Association (APHA), la Comunidad Económica Europea (CEE) y la American Society for Testing and Materials (ASTM), entre otras. Estos protocolos consisten en la realización de bioensayos de toxicidad aguda y crónica.

Para el caso de anfibios se han propuesto a los estadios embrionarios y larvales de este grupo con el fin de realizar pruebas de toxicidad para el diagnóstico, protección y monitoreo ambientales con fines de restauración, muy usados en la actualidad en países como Argentina (Izaguirre *et al.*, 2006).

Contrario a lo que se piensa popularmente que todas las especies de anuros tienen un desarrollo embrionario totalmente bifásico (acuático-terrestre) incluida una metamorfosis, hay suficientes evidencias en cuanto a las diferencias en el modo de desarrollo para algunas especies, que no presentan este tipo, sino que se da directamente dentro del huevo (Duellman & Trueb, 1994) y que por tanto no dependen del agua para terminar su desarrollo sin etapas de metamorfosis. Por lo tanto las propuestas de bioensayos o test de evaluación ecotoxicológica para este grupo deben tener en cuenta estas especialidades fisiológicas.

Sin embargo varias especies de anuros colombianos presentan estrategias reproductivas que dependen del agua para su desarrollo y metamorfosis (figura 14).

**Figura 14.** Algunas especies de anuros colombianos y sus modos reproductivos a: *Rhinella marina*; b: *Hypsiboas crepitans*; c: *Engystomops pustulosus*.



Fuente:Guayabara& Bernal (2012).

**Figura 14.** Algunas especies de anuros colombianos y sus modos reproductivos  
**d:** *Espadarana prosoblepon*; **e:** *Dendrobates truncatus*; **f:** *Pristimantis uranobates*.



Fuente:Guayabara& Bernal (2012).

La mencionada característica reproductiva en estos organismos es importante para estructurar trabajos relacionados con los efectos toxicológicos de contaminantes como la atrazina, que presenta residualidad de muchos días en cuerpos de agua superficiales (Fuentes, 2008)

Datos de evaluación toxicológica realizados por los laboratorios de microbiología y mutagénesis ambiental y de biología reproductiva de la Universidad Industrial de Santander (Valencia *et al.*, 2011; Meza *et al.*, 2013), muestran una vía de trabajo de investigación en esta área de gran importancia para el monitoreo y evaluación de los impactos a las especies de anuros, con resultados que muestran los efectos citotóxicos y genotóxicos de herbicidas como el glifosato en especies de anuros, que aunque son especies introducidas en este caso, sirven como centinelas para monitorear el impacto de estas sustancias, sin descartar también el uso de otras especies nativas. Por tanto el encontrar los protocolos de bioensayos adecuados es importante y urgente, en especial para sustancias como la atrazina que ha sido evaluada en varios lugares de regiones del Norte América, en contraste con nuestro país que no hay trabajos y sigue el aumento en los hábitos de aplicación de compuestos agroquímicos para rendimiento agrícola en el país.

### 3. CONCLUSIONES

- ✓ La atrazina ha sido un herbicida muy usado en países del Norte de América con estudios relevantes sobre sus efectos nocivos en especies de vertebrados. Sin embargo en Colombia se usa comúnmente sin ninguna restricción hasta el momento.
- ✓ Los estudios realizados en Colombia sobre degradación y persistencia en el suelo y agua de este compuesto dejan un espacio de investigación para confirmar su efecto contaminante y en especial sobre efectos fisiológicos de especies naturales como los anfibios.
- ✓ Las ranas son un grupo de especies que pueden servir como indicadoras debido a sus requerimientos ecológicos, por lo que experimentar con ellas resultaría útil para detectar la incidencia directa en la supervivencia de poblaciones naturales y en la salud de los ecosistemas, sobre todo en zonas tropicales como Colombia con especies de variados patrones reproductivos susceptibles por estar en áreas cercanas a zonas agrícolas donde se acostumbra a usar este herbicida.
- ✓ La realización de bioensayos o pruebas ecotoxicológicas a corto plazo y genotóxicas a largo plazo, son necesarias para analizar la incidencia de herbicidas como la atrazina entre otros, que aumentan el grado de vulnerabilidad en especies no blanco para estos productos químicos.
- ✓ Los estudios ecotoxicológicos relacionados con agroquímicos puede ayudar a los especialistas en el área ambiental a diagnosticar sobre la salud de los ecosistemas y la supervivencia de poblaciones animales silvestres.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, G. A. 2000. Ranas, Salamandras y Caecilias (Tetrapoda:Amphibia) de Colombia. *Biota Colombiana* 1 (3) 289 – 319.
- Adler, J. 2011. Malas hierbas resistentes. *Investigación y Ciencia*. N° 418. Pp 78-85.
- Allran, J.W. & Karasov. W. 2001. Effects of atrazine on embryos, larvae, and adults of anuran amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20 (4): 769–775.
- Alvear, Z.M., López, E., Rosas, G.A. & N.N. Espinoza. 2006. Effects of Herbicides Applied in Field Conditions on Some Biological Activities. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, Vol: 6(1): 64-76.
- Arbeli, Z.M & C. Fuentes. 2010. Prevalence of the gene *trzN* and biogeographic patterns among atrazine-degrading bacteria isolated from 13 Colombian agricultural soils. *Microbiology Ecology*, 73: 611–623.
- Arbeli, Z. M & C. Fuentes. 2007. Accelerated biodegradation of pesticides: An overview of the phenomenon, its basis and possible solutions; and a discussion on the tropical dimension. *Crop Protection*, 26:1733–1746
- Auditoría General de la Republica. 2004. Auditoria Analítica de Gestión al Uso y Manejo de Plaguicidas en Colombia. Bogotá, D.C. 33 pág.
- Beldomenico, P.M., Rey, F., Prado, W.S., Villarreal, J.C., Muñoz- de Toro, M & H.E. Luque. 2007. In ovum exposure to pesticides increases the egg weight loss and decreases hatchlings weight of *Caiman latirostris* (*Crocodylia: Alligatoridae*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68: 246–251.

Blaustein, A.R. & J.M. Kiesecker. 2002. Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters*, 5: 597–608.

Brodikin, Marc. A., H. Madhoun., M. Rameswaran & I. Vatnick. 2007. Atrazine is an Immune Disruptor in Northern Leopard Frogs (*Rana pipiens*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26(1): 80-84.

Carr, J.A., Gentles, A., Smith. E., Goleman, W.L., Urquidi, L.J., Thuett, K., Kendall, R.J., Giesy, J.P., Gross, T.S., Solomon, K.R & G.V. Kraaf. 2003. Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22: 396-405.

Carey, C. Cohen, N & L. Smith. 1999. Amphibian declines: An immunological perspective. *Developmental & Comparative Immunology* 23:459-472.

Castro, L.A. 2003. Pesticides in Colombia. Their application, use and legislation. Chapter 13. pp. 374-398. *In*: Taylor. M; Klaine, S.J; Carvalho, F, Barcelo, D & J. Everaarts. (Eds). *Pesticide residues in coastal tropical ecosystems: Distribution, Fate and Effects*.

Chen, C.Y., Hathaway, K.M., Thompson, D.G & C.L. Folt. 2008. Multiple stressor effects of herbicide, pH, and food on wetland zooplankton and a larval amphibian. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71: 209–218.

Coady, K.K., Murphy, M., Villeneuve, D. L., Hecker, M., Jones, P.D., Carr. J.A., Solomon, K.R., Smith, E.E., Van Der Kraak, G., Kendall, R.J & J.P. Giesy. 2004. Effects of atrazine on metamorphosis, growth, and development in the green frog (*Rana clamitans*). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67:941–957.

Coady, K.K., Murphy, M., Villeneuve, D. L., Hecker, M., Jones, P.D., Carr, J.A., Solomon, K.R., Smith, E.E., Van Der Kraak, G., Kendall, R.J & J.P. Giesy. 2005. Effects of atrazine on metamorphosis, growth, laryngeal and gonadal development, aromatase activity, and sex steroid concentrations in *Xenopus laevis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62: 160–173.

Christin, M.S., Menarda, L., Gendron, A. D., Ruby, S., Cyr, D., Marcogliese, D. J., Rollins-Smith, L&M. Fournier. 2004. Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Xenopus laevis* and *Rana pipiens*. *Aquatic Toxicology* 67: 33–43.

Devillers, J& M. Exbrayat. 1992. *Ecotoxicity of Chemicals to Amphibians*. Gordon and Breach Science, Philadelphia, PA. In: DeGarady, C & R. Halbrook (Eds). 2006. Using Anurans as Bioindicators of PCB Contaminated Streams. *Journal of Herpetology*, Vol. 40 (1): 127–130.

Devine, M.D., Duke, S.O&C. Fedtke. 1993. *Physiology of Herbicide Action*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall. En: Solomon, K. R., Carr, J. A., Du Preez, L. H., Giesy, J. P., Kendall, R. J., Smith, E & Van Der Kraak, G. J. 2008. Effects of Arazine on Fish, Amphibians, and Aquatic Reptiles: A Critical Review. *Critical Reviews in Toxicology*, 38: 721-772.

Diana, S.G., Resetarits, W. J., Schaeffer, D.J., Beckmen, K.B&V. R. Beasley. 2000. Effects of atrazine on amphibian growth and survival in artificial aquatic communities. *Environmental toxicology and chemistry*. 19 (12): 2961–2967.

Duellman, W.E & L. Trueb. 1994. *Biology of amphibians*. The Johns Hopkins University. Press, Baltimore.

Forson, D.D. & A. Storfer. 2006. Atrazine increases ranavirus susceptibility in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. *Ecological Applications*. 16(6): 2325–2332

Eisler, R. 1989. Atrazine hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U. S. Department of the Interior. Fish and Wildlife Service. Biological Report. 85 (18). 53 pp.

EPA. U.S. Environmental Protection Agency. 2003. Ambient aquatic life water quality criteria for Atrazine-Revised draft. Office of water. Office of science and technology. Health and ecological criteria division. Washintong D.C. 171 pág.

FAO, 2010. Codex alimentarius commission. Procedural manual. 9 edition. World health organization. Food and agriculture organization of the united nations. Rome. 184 pag.

Fisher, R. & D. Binkley. 2000. Ecology and Management of Forest Soils. 3 Edition. John Wiley & Sons. 489 páginas.

Fournier, M., Cyr, D., Blakley, B., Boermans, H & P. Brousseau. 2000. Phagocytosis as a Biomarker of Immunotoxicity in Wildlife Species Exposed to Environmental Xenobiotics. American Zoology., 40:412-420.

Fuentes, C. 2008. Estudio del comportamiento y destino en el ambiente de plaguicidas de uso agrícola: caso del herbicida atrazina en una zona agrícola cálida de Colombia. Documento inédito. Facultad de agronomía. Universidad Nacional de Colombia.

Fuentes, C., Lozano de Yunda, A., Guerrero, J.A., Perez, L.E., Olarte, I & B. Acevedo. 2003. Comportamiento y destino ambiental de la atrazina en el suelo: detección por HPCL y <sup>14</sup>C de las concentraciones ambientales bajo condiciones controladas y de campo en Saldaña-Tolima. Agronomía Colombiana. 21(1-2): 29-48.

García, L & Fernández-Quintanilla. 1991 Fundamentos de las malas hierbas y herbicidas. Editorial Mundiprensa. Madrid, España. En: Fuentes, C.L (Ed). 2008. Estudio del comportamiento y destino en el ambiente de plaguicidas de uso agrícola: caso del herbicida Atrazina en una zona agrícola cálida de Colombia (Documento Inédito). Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia.

Gallo, S.M., B.J. Palacio & P. Gutiérrez. 2006. Efectos del insecticida clorpirifos sobre la tasa de crecimiento y la metamorphosis de *Smilisca phaeota* (Cope, 1862) (Anura: Hylidae). Actualidades Biológicas: 28:51-58.

Gilberth, S.F. 2005. Determinación del sexo por el ambiente. Biología del Desarrollo. 7ª edición. Editorial Panamericana. 855 pag.

Greulich, K & S. Pflugmacher. 2003. Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. Aquatic Toxicology, 65(3): 329-336.

Guayabara, M.G & M.H. Bernal. 2012. Fecundidad y fertilidad en once especies de anuros colombianos con diferentes modos reproductivos. Caldasia 34 (2):483-496.

Gunderson, M.P., Veldhoen, N., Skirrow, R.C., Macnab, M.K., Ding, W., Van Aggelen, G & C.C Helbing. 2011. Effect of low dose exposure to the herbicide atrazine and its metabolite on cytochrome P450 aromatase and steroidogenicfactor-1 mRNA levels in the brain of premetamorphic bullfrog tadpoles (*Rana catesbeiana*). Aquatic Toxicology. 102(1-2): 31–38

Hamdoun, A & D. Epel. 2007. Embryo stability and vulnerability in an alwayschanging world. Proceedings of the National Academy of Sciences. PNAS. 104(6): 1745-1750.

Hayes, T., Khoury, V., Narayan, A., Nazir, M., Park, A., Brown, T., Adame, L., Chan, E., Buchholz, D., Stueve, T., & S. Gallipeau. (2010). Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*) Proceedings of the National Academy of Sciences DOI: 10.1073/pnas.0909519107

Hayes, T., Stuart, A.A., Mendoza, M., Collins, A., Noriega, N., Vonk, A., Johnston, G., Lui, R. & D. Kpodzo. 2006. Characterization of Atrazine-Induced Gonadal Malformations in African Clawed Frogs (*Xenopus laevis*) and Comparisons with Effects of an Androgen Antagonist (Cyproterone Acetate) and Exogenous Estrogen (17 $\beta$ -Estradiol): Support for the Demasculinization/Feminization Hypothesis. Environmental Health Perspectives. 114 (1): 134-141.

Hayes, T.B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. & A. Vonk. 2002a. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. Proceedings of the National Academy of Sciences. PNAS: 99 (8): 5476-5480

Hayes, T.B., Haston, K., Tsui, M., Hoang, A., Haefele, C., & A. Vonk. 2002b. Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): Laboratory and field evidence. Environmental Health Perspectives 111: 568-575.

Hayes, T.B., Haston, K., Tsui, M., Hoagan, A., Haefelle, C & A. Vonk. 2003. Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): laboratory and field evidence. Environmental Health Perspectives. 111: 568-575.

Hayes, T.B. 2004. There Is No Denying This: Defusing the Confusion about Atrazine. BioScience. 54(12): 1138-1149.

Hayes, T.B. 2005. Welcome to the Revolution: Integrative Biology and Assessing the Impact of Endocrine Disruptors on Environmental and Public Health. *Integrative comp biol.* 45:321–329.

Hayes, T.B., Khourya, V., Narayana, A., Nazira, M. Parka,A.,Brown, T., Adamea,L.,Chana, E., Buchholzb, D., Stuevea,T& S. Gallipeaua. 2009. Atrazine induces complete feminization and chemicalcastration in male African clawed frogs (*Xenopuslaevis*). *Ecology. PNAS Early Edition. PNAS: 1-6.* [www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0909519107](http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0909519107).

Houck, A &S. Sessions. 2006. Could atrazine affect the immune system of the frog, *Ranapiens*?.*Bios 77(4): 107-112.*

HRAC. Herbicide Resistance Action Committee. 2013. The World of HerbicidesAccording to HRAC classification on mode of action 2010. <http://www.hracglobal.com>

Hua, J. &R.A. Relyea. 2012. East Coast vs West Coast: effects of an insecticide in communities containing different amphibian assemblages. *FreshwaterScience.* 31(3):787–799.

ICA. . Instituto Colombiano Agropecuario. 2010. Comercialización de plaguicidas 2009. Subgerencia de Protección Vegetal Dirección Técnica de Inocuidad e Insumos Agrícolas. 71 pág.

ICA. Instituto Colombiano Agropecuario. 2011. Estadísticas de comercialización de plaguicidas químicos de uso agrícola 2010. Subgerencia de Protección Vegetal Dirección Técnica de Inocuidad e Insumos Agrícolas. 95 pág.

International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 2012. Select Lists of Herbicide Resistant Weeds. Fundada y soportada por: Herbicide Resistance Action Committee (HRAC), the North American Herbicide Resistance Action Committee (NAHRAC), and the Weed Science Society of America (WSSA). [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com).

Izaguirre, M.F., Marín. L., Vergara. M.N., Lajmanovich. R.C., Peltzer. P & V.H. Casco. 2006. Modelos experimentales de anuros para estudiar los efectos de piretroides. *Ciencia, docencia y tecnología*. 32: 181-206.

Jamieson, B.G.M. 2003. *Reproductive Biology and Phylogeny of Anura*. Volume 2. Editor B.G.M. Jamieson. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire, U.S.A. ISBN1-57808-288-9. 452 pag.

Kiesecker, J.M. 2002. Synergism between trematode infection and pesticide exposure: A link to amphibian limb deformities in nature?. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America- PNAS*. 99(15): 9900–9904.

Langerveld, A. J., Celestine, R., Zaya R&D. Mihalko. 2009. Chronic exposure to high levels of atrazine alters expression of genes that regulate immune and growth-related functions in developing *Xenopus laevis* tadpoles. *Environmental Research*. 109:379–389.

Langlois, V.S., Carew, A.C., Pauli, B., Wade, M.G., Cooke, G.M&V. Trudeau. 2010. Low Levels of the Herbicide Atrazine Alter Sex Ratios and Reduce Metamorphic Success in *Rana pipiens* Tadpoles Raised in Outdoor Mesocosms. *Environmental Health Perspectives*. 118 (4): 552-557.

Lavilla, E.O. Amenazas, declinaciones poblacionales y extinciones en anfibios Argentinos. 2001. *Cuadernos de Herpetología* 15(1): 59-82.

León, T.E & Rodríguez, L.S. 2002. Ciencia, tecnología y ambiente en la agricultura colombiana. Cuadernos tierra y justicia, N° 4. ISBN 958-9262-15-5.

Lenkowski, J.R., Reed, M., Deininger, L. & K.A. McLaughlin. 2008. Perturbation of Organogenesis by the Herbicide Atrazine in the Amphibian *Xenopus laevis*. Environmental Health Perspectives 116 (2): 223-230.

Lips, K.R., P.A. Burrowes., J. R. Mendelson. &G. Parra. 2005. Amphibian Population Declines in Latin America: A Synthesis. Biotropica. 37(2): 222-226.

Lynch, J.D., Ruiz-Carranza, P.M. & M.C. Ardila-R. 1997. Biogeographic patterns of Colombian frogs and toads. Rev. Acad. Colombo Cienc. 21: 237-248.

Lynch, J.D & T. Grant. 1998. Dying frogs in Western Colombia: Catastrophe or trivial observation? / Ranas muertas o moribundas en el occidente de Colombia. Revista de la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y naturales. 82:149-152.

Lynch, J.D & S. Arroyo. 2009. Risks to Colombian Amphibian Fauna from Cultivation of Coca (*Erythroxylum coca*): A Geographical Analysis. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 72: 974–985.

Mann, R.M., R.V. Hyne., C.B. Choung & S.P. Wilson. Amphibians and agricultural chemicals: Review of the risks in a complex environment. 2009. Environmental Pollution 157: 2903–2927.

Matheus, H. & P.Z. Flórez. 2006. Especificaciones técnicas en material fitosanitario y organizacional, para acceder al mercado de productos agroalimentarios. ICA. Convenio SENA -SAC No. 000152/2005. 32 pp.

Meza, F. 2010. Evaluación del efecto genotóxico de la mezcla roundup SL-Cosmoflux 411F en la rana de desarrollo directo *Eleutherodactylus johnstonei* (Anura: Eleutherodactylidae) mediante el ensayo cometa. Tesis de grado para optar al título de Biólogo. Facultad de Ciencias. Escuela de Biología. Universidad Industrial de Santander. 76 pag.

Meza, F.L., Ramírez-Pinilla. M. & J.L. Fuentes. 2013. Toxic, Cytotoxic, and Genotoxic Effects of a Glyphosate Formulation (RoundupVRSL®CosmofluxVR 411F) in the Direct-Developing Frog *Eleutherodactylus johnstonei*. Environmental and Molecular Mutagenesis. 54:362-373

Ministerio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (Ministerio Ambiente y Desarrollo Sostenible). 2010. Resolución 383. Lista de especies silvestres amenazadas para Colombia.

Olarte, I., Guerrero, J. A. & C. Fuentes. 2008. Detección de residuos de atrazina y de dos de sus metabolitos en suelo y agua de drenaje en una parcela comercial de maíz (*Zea mays* L.), en Saldaña, Tolima, usando técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En: Fuentes, 2008 (Ed). Estudio del comportamiento y destino en el ambiente de plaguicidas de uso agrícola: caso del herbicida atrazina en una zona agrícola cálida de Colombia. Documento inédito. Facultad de agronomía. Universidad Nacional de Colombia. 510 pág.

Papa, J. C. 2007. El modo de acción de los herbicidas. Protección Vegetal, Manejo de Malezas. EEA Oliveros del INTA (Centro Regional Santa Fe). Jornadas de actualización. Sociedad Rural de Tucumán: 2,3 y 4 octubre. Argentina. Resúmenes: pp: 17-19.

Patiño, C. A. 2009. Glifosato y Atrazina ¿a dónde van a parar?. UNperiodico. N°125. Pág.: 11. Universidad Nacional, Bogotá D.C.

Paulino, M.G., M.M. Sakuragui. & M.N. Fernandes. 2012. Effects of atrazine on the gill cells and ionic balance in a neotropical fish, *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*.86(1):1-7.

Pimentel, D. 2005. Environmental and Economic costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability* (2005) 7: 229–252.

Ramírez, P. & A. C. Mendoza. 2008. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 414 pag.

Rohr, J.R & P.W. Crumrine. 2005. Effects of an Herbicide and Insecticide on pond a Community Structure and Processes. *Ecological Applications*.15:1135–1147.

Rohr, J.R & McCoy, K.A. 2010. A Qualitative Meta-Analysis Reveals Consistent Effects of Atrazine on Freshwater Fish and Amphibians. *Environmental Health Perspectives*. 118 (1): 20-32.

Rollins, S., Hopkins, D. & L.K. Reinert. 2004. An amphibian model to test the effects of xenobiotic chemicals on development of the hematopoietic system. *Environmental toxicology and chemistry*. 23 (12): 2863–2867.

Rondón, I.S., D. Pardo. & P.R. Eslava. 2010. Efecto de los herbicidas sobre el sistema inmune: una aproximación en peces. *Revista complutense de ciencias veterinarias*. 4:1-22.

Rueda-Almonacid, J.V., J. D. Lynch & A. Amezcua. 2004. Libro rojo de los anfibios de Colombia. Serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia.

Conservación Internacional Colombia. Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá. Colombia. 384 pp.

Rueda-Almonacid J.V. 1999. Anfibios y Reptiles Amenazados de extinción en Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 23 (Suplemento Especial): 475-497.

Sánchez, L.A., Hernández, C.M. & C.L. Fuentes. 2008. Detección de residuos biodisponibles de Atrazina en suelo ya gua, usando técnicas de bioensayos con plantas indicadoras. En: Fuentes, 2008 (Ed). Estudio del comportamiento y destino en el ambiente de plaguicidas de uso agrícola: caso del herbicida atrazina en una zona agrícola cálida de Colombia. Documento inédito. Facultad de agronomía. Universidad Nacional de Colombia. 510 pág.

Santos, T.G & C.B. Martinez. 2012. Atrazine promotes biochemical changes and DNA damage in a Neotropical fish species. *Chemosphere*, 89(9):1118-1125.

Segnini, M.I., J. Medina., S. Marcano., H.J. Finol. & S.A. Boada. 2005. Effects of herbicide on the kidneys of two Venezuelan cultured fish: *Caquetaia kraussii* and *Colossoma macropomum* (Pisces: Ciclidae and Characeae). *Revista de Biología Tropical*, 53(1): 55-59.

Solomon, K. R., Carr, J. A., Du Preez, L. H., Giesy, J. P., Kendall, R. J., Smith, E & G. J. Van Der Kraak. 2008. Effects of Arazine on Fish, Amphibians, and Aquatic Reptiles: A Critical Review. *Critical Reviews in Toxicology*, 38: 721-772

Solomon, K. R., Anadón, A., Carrasquilla, G., Cerdeira, A., Marshall, J & L.H. Sanin. 2007. Coca and poppy eradication in Colombia: Environmental and human health assessment of aerially applied glyphosate. *Environmental Contamination and Toxicology*. 190:43–125.

Stebbins, R. C & N. Cohen. 1997. A Natural History of Amphibians. Princeton University. 315 pag.

Storrs, S.I. & J.M. Kiesecker. 2004. Survivorship Patterns of Larval Amphibians Exposed to Low Concentrations of Atrazine. *Environmental Health Perspectives*. 112 (10): 1054-1057.

Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodriguez, A. S. L., Fischman, D. L. & R.W. Walter. 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306:1783-1786.

Tavera, M.L., Ruby, S., Brousseau, P., Fournier, M., Cry, D. & D. Marcogliese. 2002a. Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the testis. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21(3): 527-531.

Tavera, M.L., Ruby, S., Brousseau, P., Fournier, M., Cry, D. & D. Marcogliese. 2002b. Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the ovary. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21(6): 1264-1267.

Taberner, P.A., Cirujeda, A. & L.C. Zaragoza. 2007. Manejo de poblaciones de malezas resistentes a herbicidas. FAO. 2007. Roma. 67 pág.

Thompson, D. G. 2004. Potential effects of herbicides on native amphibians: a hierarchical approach to ecotoxicology research and risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23 (4): 813–814.

Torrado, P.A. 2005. Buenas Prácticas Agrícolas. Sistema de aseguramiento de la inocuidad de los alimentos. ICA (Subgerencia de protección y regulación agrícola).Boletín Técnico. 17 pag. Bogotá, D.C.

Valencia, L., García, A., Ramírez-Pinilla, M. & J. L. Fuentes. 2011. Estimates of DNA damage by the comet assay in the direct-developing frog *Eleutherodactylus johnstonei* (Anura, Eleutherodactylidae). *Genetics and Molecular Biology*, 34(4): 681-688.

Velásquez, B., Castro, F., Bolívar, W. & M. I. Herrera. 2008. Infección por el hongo quitidrio *Batrachochytrium dendrobatidis* en anuros de la cordillera occidental de Colombia. *Herpetotropicos*, 4(2): 65-70.

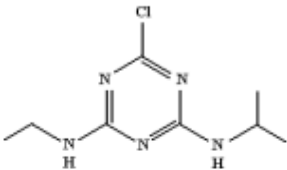
Vergara, V., G. Gutierrez. & H. Ramos. 2009. Evaluación de la vulnerabilidad del acuífero Morroa a contaminación por plaguicidas aplicando la metodología DRASTIC. *Revista Ingeniería y desarrollo. Universidad del Norte*. 26: 51-64.

Wake, D.B. & V.T. Vredenburg. 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *PNAS. Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105 (1): 11466–11473.

Yin, X.H., G.N. Zhu, X.B. Li & S.Y. Liu. 2009. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos to amphibian Chinese toad (Amphibian: Anura) by Comet assay and Micronucleus test. *Mutation Research*, 680:2–6.

## ANEXOS

### Anexo A. Características químicas de la atrazina

triazina	Nombre:	Atrazina
	Nomenclatura:	2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-
	Estructura:	
	Peso molecular:	215.68 g mol <sup>-1</sup>
	Presión de vapor:	2.89x10 <sup>-7</sup> mm Hg (20°C)
	Solubilidad en agua:	70 mg L <sup>-1</sup> (25°C)
	Log K <sub>ow</sub> :	2.68 (25°C)
	Hidrólisis:	estable 30 días a pH 5-9 y 25°C
	Fotólisis acuosa:	(luz natural) t <sub>1/2</sub> 335 días a pH 7
	Fotólisis en suelo:	(luz natural) t <sub>1/2</sub> 12 días

Fuente: Castro. (2008)

### Anexo B. Algunas empresas comercializadoras de atrazina en Colombia

EMPRESA	PRODUCTO	FORMULACIÓN
DVA Agro de Colombia LTDA	Atrazina-DVA	500 SC suspensión concentrada 900 WG Gránulos dispersables
INVESA	Atrazina 80% WP- INVESA	80% WP Polvo mojable
VECOL S.A.	Atrazina-Vecol 90% WG	90% WG Gránulos dispersables
NUFARM COLOMBIA S.A	Atrazina Nufarm 800 WP	800 WP Polvo mojable
INVERAGRO S.A	Atrazina 500 SC	500 SC Gránulos dispersables

Anexo C. Modelos de fichas técnicas de la atrazina publicadas por algunas empresas comercializadoras de agroquímicos en Colombia.



FICHA TECNICA ATRAZINA 900 WG DVA



**HERBICIDA AGRÍCOLA**

**GRÁNULOS DISPERSABLES WG**  
**REGISTRO NACIONAL NO 1138**

**ATRAZINA 900 WG – DVA**, es un herbicida para el control de malezas en maíz. Es absorbido principalmente por las raíces pero también por las hojas de las malezas inhibiendo la fotosíntesis y controlando principalmente malezas dicotiledóneas (hoja ancha) y algunas gramíneas (monocotiledóneas).

Estas características y su compatibilidad con los cultivos recomendados permiten elegir el tiempo de aplicación entre pre-emergencia y postemergencia temprana.

**ATRAZINA 900 WG – DVA**, debe ser aplicado con suficiente humedad en el suelo y su uso puede ser igualmente pre o post-emergente según la necesidad. En aplicaciones post-emergentes se debe evitar que las malezas tengan más de tres (3) hojas, malezas de mayor tamaño requieren una dosis de herbicida mayor y aún así son más difíciles de combatir. En caso de suceder al maíz un cultivo sensible a **ATRAZINA 900 WG – DVA** (algodón, soya, frijo, ajonjolí, arroz), es recomendable no utilizar dosificación mayor a 1,7 Kg/Ha.

**COMPOSICIÓN GARANTIZADA:**  
 Ingrediente activo / Aditivo:  
 Atrazina.....  
 900 g/kg  
 : 6-chloro-N2-etil-N4-isopropil-1,2,5-triazina.2,4.Diamine.  
 Ingredientes  
 Aditivos.....c.  
 s.p 1 litro

**RECOMENDACIONES DE USO:**

Cultivo	Malezas	Dosis(PC/Há)- Uso	P.C.	P.R
Maíz	Echinochloa colonum (Liedrepuerco) Digitaria sanguinaris (Guardarocio) Rotboellia exaltata (Caminadora) Portulaca oleracea (Verdolaga) Ipomoea tiliaceae (Batatilla) Eleusine indica (Pata de gallina) Amaranthus dubius (Bledo)	1.4L/Ha	15 días	Cuando el producto se haya



	Cenchrus brownie (Cadillo) Desmodium tortuosum (Pega pega) Digitaria horizontalis (Yerba de conejo) Bidens pilosa (Amor seco) Leptochloa filiformis (Paja mona) Sida acuta (Escoba)			secado sobre el Follaje
--	--	--	--	-------------------------

**P.C:** Periodo de carencia  
**P.R:** Periodo de reentrada

**FRECUENCIA Y ÉPOCA DE APLICACIÓN:**

ATRAZINA 900 WG – DVA, se aplica en postemergencia temprana al cultivo y a las malezas en crecimiento activo.

**COMPATIBILIDAD Y FITOTOXICIDAD:**

No se recomienda mezclar ATRAZINA 900 WG – DVA, sin hacer pruebas de compatibilidad.

**PREPARACIÓN DE MEZCLAS:**

Agregue agua al tanque de preparación hasta ¼ de su capacidad. Vierta el producto directamente al tanque y mezcle bien mediante agitación mecánica o hidráulica, complete el tanque con el volumen deseado de agua manteniendo agitación constante.

**REINGRESO DE ANIMALES ÁREAS TRATADAS:**

Evite el ingreso de personas y animales a un campo recién tratado con el producto hasta que el líquido de aspersión se haya secado completamente en el follaje del cultivo.



Importado y Distribuido por:  
**DVA DE COLOMBIA LTDA**  
Cra 46 No. 152 - 46 Of. 401  
Centro Comercial Mazuren  
PBX: 2744010  
Bogotá D.C. - Colombia

Fuente: <http://www.dva.com.co>

**Anexo D.** Modos reproductivo frecuentes en especies de anuros colombianos, dependientes del agua

ESTRATEGIA	CARACTERISITCAS
Modo Reproductivo I	Huevos acuáticos puestos a manera de cadena con desarrollo de larvas en aguas lóaticas.
Modo Reproductivo II	Huevos acuáticos puestos a manera de película con desarrollo de larvas en aguas lénticas.
Modo Reproductivo III	Huevos puestos en nidos de espuma sobre el agua con desarrollo de larvas en aguas lénticas.
Modo Reproductivo IV	Huevos arborícolas con desarrollo de larvas en aguas lóaticas.

Fuente: Guayabara & Bernal (2012).