



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**NIVELES DE COLINESTERASA PLASMÁTICA EN
Carduelis barbatus (Molina, 1782) EXPUESTOS A
PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS**

LILIANA PATRICIA ORTIZ TOLHUYSEN

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario.
Departamento Ciencias Biológicas
Animales.

PROFESOR GUIA: DR. PEDRO CATTAN AYALA

SANTIAGO, CHILE
2009



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



**NIVELES DE COLINESTERASA PLASMÁTICA EN
Carduelis barbatus (Molina, 1782) EXPUESTOS A
PLAGUICIDAS AGRÍCOLAS**

LILIANA PATRICIA ORTIZ TOLHUYSEN

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario.
Departamento Ciencias Biológicas
Animales.

NOTA FINAL:

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA	: PEDRO CATTAN A.
PROFESOR CONSEJERO	: GUSTAVO FARIÁS R.
PROFESOR CONSEJERO	: MARCO GALLEGUILLOS C.

SANTIAGO, CHILE
2009

*Dedico esta memoria con todo mi amor,
a mis padres Guillermo y Liliana,
a mis hermanos Guillermo y Marlene,
a mis abuelos Editha, Carlos, Temístocles e Irma
y a mi novio Tomás.*

AGRADECIMIENTOS

Para llevar a cabo esta Memoria, conté con la ayuda y el apoyo de muchas personas, las que de una u otra forma me permitieron cumplir el sueño de toda mi vida, ser Médico Veterinario. Por esto, mis más profundos y sinceros agradecimientos a:

Mis padres, que desde pequeña me inculcaron el amor y respeto por la naturaleza y en especial los animales, que me enseñaron a estudiar y a luchar por lo que quería y que no dejaron de apoyarme ni un solo momento en toda mi vida estudiantil. Además, muchas gracias por darme siempre un ambiente rodeado de amor, por enseñarme sus valores y ser un ejemplo de personas de las cuales me siento muy orgullosa.

Mis hermanos, por ser mis compañeros de la infancia, de juegos, risas, penas y peleas por quererme y soportarme como su hermana mayor y por ser siempre mis “cabros chicos” que tanto quiero.

Mis abuelos, por ser ellos que me enseñaron el gusto por la tierra, por el campo, la libertad de montar un caballo y tomarse un vaso de leche recién sacada de la vaca y además, por ser un ejemplo de esfuerzo, de lucha y superación en la vida. Los quiero infinito viejitos.

Mi profesor guía, Dr. Pedro Cattán que pese a todas las dificultades que se presentaron durante la realización de esta Memoria, siempre estuvo dispuesto en ayudarme y resolver todo tipo de dudas al respecto.

A Charif Tala, por su gran ayuda para la realización de esta memoria y colaboración para obtener los medios para realizar las campañas de terreno, por su guía para la investigación bibliográfica y por su apoyo moral en los momentos difíciles.

A los demás académicos que me ayudaron a completar esta tarea, Dr. Gustavo Farías y al Dr. Marco Galleguillos por su valiosa ayuda y sabios consejos.

A Pedro Enríquez y José Chamorro de la Estación Cuarentenaria y Laboratorio Lo Aguirre del Servicio Agrícola y Ganadero, por su valiosa ayuda, que permitió llevar a cabo los análisis de las muestras.

A Carlos Valdovinos de la Universidad Mayor, por permitirme trabajar con su grupo de estudiantes y así, poder familiarizarme con las capturas y toma de muestras necesarias para la realización de esta Memoria.

A la gente del predio Agroelite S.A. y del Servicio Agrícola y Ganadero de la Sexta Región, por colaborar con lo necesario para la realización de las capturas.

A las personas del Laboratorio DECORMUN en Rancagua, por ayudar desinteresadamente a la realización de esta memoria.

A mis grandes amigos de la universidad: Mariluz Tobar, Paula Miranda, Sebastián Saavedra, Pablo Oteíza, Alberto Muñoz, Rodrigo Jorquera, Rodrigo Castro, Marcia Sandoval, a toda la gran Comunidad del hoyito y a mi grupo de internado, gracias por hacer mi paso por la universidad una experiencia inolvidable.

Un especial agradecimiento a Rodrigo Castro, quién estuvo conmigo durante prácticamente todo el desarrollo de esta Memoria, por ser mi compañero invencible de terreno, por ayudarme a conseguir cada una de las muestras, durmiendo poco, exponiéndonos a pesticidas, inventando una y mil formas de tratar de capturar un mísero jilguero o un par de codornices. Por aguantar mi mal genio, por apoyarme cuando ya no quería luchar más, por todo eso: muchas gracias Negris.

Y Finalmente a mi novio Tomás Valle por ser quién me impulsó a dar el toque final a esta Memoria y por ende a mi gran sueño. Gracias mi amor por apoyarme en todo, por desvelarte conmigo, por tu paciencia y ayuda, sin ti no habría terminado esto jamás. Gracias por ser mi gran amigo y mi gran amor, TE AMO.

ÍNDICE DE MATERIAS

PÁGINA

RESUMEN.	
SUMMARY.	
INTRODUCCIÓN.	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	3
Clasificación de los plaguicidas	3
Propiedades de los plaguicidas organofosforados	5
Propiedades de los carbamatos	5
Metabolismo de los inhibidores de la colinesterasa	6
Mecanismo de acción de organofosforados y carbamatos	6
Toxicidad	7
Tipos de colinesterasas	7
Consecuencias de la exposición a compuestos organofosforados y carbamatos en la fauna silvestre	8
Susceptibilidad	9
Signos clínicos y alteraciones conductuales comúnmente asociados con la intoxicación de organofosforados y carbamatos	9
Efectos sobre funciones fisiológicas	10
Diagnóstico	11
Fuentes de variabilidad del método de Ellman	12
Situación en Chile	13
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	14
MATERIAL Y MÉTODOS.	15
Fechas y ubicación del estudio	15
Especie estudiada	15
Obtención del material biológico	16
Análisis de las muestras	18
Análisis de resultados	20
Consideraciones legales y de bioseguridad	21

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	22
CONCLUSIONES.	31
REFERENCIAS.	32
ANEXOS.	39

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla N° 1: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.	22
Tabla N° 2: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Elaenia albiceps</i> en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.	24
Tabla N° 3: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> .	26
Tabla 4: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> machos y hembras en predio Agroelite.	27
Tabla 5: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> machos y hembras en cuesta Chacabuco.	28

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura N° 1: Fotografía (A) Fundo Santa María; fotografía (B) Cuesta Chacabuco.	15
Figura N° 2: Fotografía (A) <i>C. barbatus macho</i> ; fotografía (B) <i>C. barbatus Hembra</i> .	16
Figura N° 3: Fotografía de red niebla utilizada para la captura de ejemplares.	17
Figura N° 4: Fotografía de muestra de sangre colectada en terreno.	18
Figura N° 5: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.	23
Figura N° 6: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Elaenia albiceps</i> en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.	24
Figura N° 7: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> en predio Agroelite y en Cuesta Chacabuco.	26
Figura N° 8: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> , machos y hembras en predio Agroelite.	27
Figura N° 9: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de <i>Carduellis barbatus</i> , machos y hembras en Cuesta Chacabuco.	28

RESUMEN

Organofosforados y carbamatos son plaguicidas de amplio uso en la agroindustria y en forma doméstica. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la acetilcolinesterasa, enzima de vital importancia en el funcionamiento normal del sistema nervioso. Un descenso en su actividad puede provocar diferentes manifestaciones neurológicas como: debilidad muscular, convulsiones y mortalidad. De todos los animales afectados por estos compuestos, las aves son uno de los grupos más susceptibles a su toxicidad.

El objetivo de este estudio fue investigar la posible exposición de la avifauna a pesticidas inhibidores de colinesterasas usando al jilguero (*Carduelis barbatus*) como especie indicadora. El estudio fue realizado en Chile central, en una zona con aplicación de plaguicidas y en un sitio libre de fumigaciones.

Los eventos de aplicación de plaguicida no causaron diferencias significativas en la actividad promedio de colinesterasa plasmática, cuando se comparó las muestras sanguíneas tomadas previo a la aplicación con las posteriores ($p > 0,05$). Sin embargo, los niveles promedio de actividad enzimática de los jilgueros capturados en el sitio de aplicación fueron significativamente más bajos ($p < 0,05$) que los del sitio libre de fumigación.

Palabras clave: *Carduelis barbatus*, organofosforados, carbamatos, plasma, colinesterasa.

SUMMARY

Organophosphorus and carbamate are pesticides widely used in the agroindustry and in domestic form. Their mechanism of action is based in the inhibition of the acetylcholinesterase, enzyme of vital importance in the normal function of the nervous system. A descent in its activity could cause different neurological manifestations as a muscular weakness, convulsions and mortality. Of all the animals affected by these composed, the birds are one of the most susceptible groups to their toxicity.

The objective of this study was to investigate the possible exposure of the birdlife to cholinesterase inhibiting pesticides, using the Jilguero (*Carduelis barbatus*) as an indicator species. The study was carried out in central Chile, in a sprayed zone and in a non sprayed site.

Spray events caused non-significant differences in mean plasma activity when we compared the prior samples taken before the application with the subsequent ($p>0,05$). Nevertheless, mean plasma cholinesterase levels of jilgueros from sprayed orchard was significantly lower ($p<0,05$) than cholinesterase levels of birds from non sprayed site.

Key words: *Carduelis barbatus*, organophosphorus, carbamates, plasma, cholinesterase.

INTRODUCCIÓN

Desde los tiempos en que el hombre se hace sedentario y se dedica a la agricultura, ha manifestado interés por crear y desarrollar técnicas y medidas para proteger sus siembras. Hoy, principalmente son sustancias químicas denominadas plaguicidas o pesticidas. La intensificación de la producción agrícola a nivel mundial, ha llevado a un creciente aumento del uso de estas sustancias con graves consecuencias para la salud humana y de los ecosistemas.

Por varias décadas la vida silvestre ha enviado señales de alerta acerca de los daños causados por la contaminación química. Uno de los primeros esfuerzos en llamar la atención sobre los daños de la contaminación química fue el libro, “Silent Spring”, de la bióloga Rachel Carson, quien se enfocó principalmente en la primera generación de sustancias químicas (organoclorados), sobre todo en su capacidad de mermar o extinguir poblaciones silvestres y en los impactos subletales como los efectos en la reproducción y en el sistema inmune. En Europa y Norteamérica en los años cincuenta y sesenta, muchas poblaciones de aves se vieron afectadas por el uso de estos pesticidas bioacumulables (organoclorados). El uso de estos plaguicidas fue prohibido a principios de la década del setenta y fue reemplazado por un nuevo arsenal de pesticidas, entre los que destacan los compuestos organofosforados y carbamatos, principios activos que se caracterizan por ser poco persistentes en el medio ambiente pero mucho más tóxicos que los organoclorados lo que significa que incluso cantidades mínimas pueden provocar una severa intoxicación.

Los insecticidas organofosforados y carbamatos actúan inhibiendo la enzima acetilcolinesterasa en el sistema nervioso central y periférico, impidiendo la hidrólisis de acetilcolina (neurotransmisor). La inhibición de la acetilcolinesterasa produce una acumulación de acetilcolina en el espacio sináptico, lo que se traduce en alteraciones en la transmisión colinérgica, con los subsecuentes cambios fisiopatológicos, causando finalmente la muerte por falla respiratoria (O’Brien, 1967; Matsumura, 1985; Mileson *et al.*, 1998).

Dentro de las especies animales, las aves son excelentes indicadoras de calidad ambiental debido a que, por su gran movilidad, comportamientos y hábitos alimentarios (muchas especies se alimentan de semillas e insectos plaga de los cultivos lo que las hace muy vulnerables), rara vez quedarán excluidas de situaciones de riesgo ambiental. Por ser

muy conspicuas, muchas veces es posible observar en terreno las evidencias de impacto de sustancias agroquímicas usadas en el agroecosistema y esto, les ha conferido el título de “centinelas” de la calidad del ambiente en general y de los agroecosistemas en particular. Canavelli y Zaccagnini (1996), describieron uno de los ejemplos emblemáticos de impacto de plaguicidas en la agricultura y que corresponde a las mortandades masivas de aguiluchos langosteros (*Buteo swainsoni*) donde toda la población de esta especie migratoria estuvo en riesgo por el control químico de tucuras, artrópodos plaga que arrasaban con los cultivos (Woodbridge *et al.*, 1995), con un insecticida muy potente, el monocrotofós (Goldstein *et al.*, 1999^a). Estos incidentes fueron sucedidos por un conjunto de casos de mortalidad de otras especies residentes (Hooper *et al.*, 2002), poniendo en evidencia que los productos que se usaron en el control de plagas no eran inocuos para este grupo y muy probablemente tampoco para otros taxa.

En el caso particular de Chile central, esta zona se caracteriza por una intensa producción agrícola, lo que se traduce en muchas hectáreas de campos y huertos plantados y por ende tratados con distintos productos agroquímicos. En estos lugares, circulan muchas especies de aves silvestres que son potencialmente susceptibles a la exposición a estos productos químicos.

Con el fin de realizar una primera aproximación de la exposición a plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa, el objetivo de esta memoria fue medir la actividad de colinesterasa plasmática, obtenida de muestras de sangre de Jilgueros (*Carduellis barbatus*) capturados en dos sitios: un predio tipo, con manejo característico de los sectores frutícolas de Chile central y otro de contraste en la Cuesta Chacabuco, área que presenta el ecosistema natural utilizado por las aves típicas de la zona mediterránea del país.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El crecimiento y la expansión de la agricultura están acompañados de mejores productos de manejo genético y un incremento en el uso de las tecnologías de insumos. En esta categoría entran los fertilizantes, herbicidas, insecticidas, fungicidas, semillas mejoradas y maquinaria agrícola (Viglizzo, 2001). Lo más probable es que estos procesos de intensificación y expansión continúen en los próximos años (Andrade y Sadras, 2000), lo que sin dudas tendrá efectos que podrían verse reflejados en algunos indicadores ambientales, como por ejemplo la pérdida de biodiversidad (McLaughlin y Mineau, 1995; Tremblay *et al.*, 2001).

A la lucha contra las distintas plagas que amenazan los alimentos y otros productos agrícolas, se suma la emprendida contra los insectos y otros animales vectores de enfermedades transmisibles. Ambas han adquirido características especiales con el progreso de la industria química en el siglo XX. Este progreso ha desarrollado gran cantidad de sustancias químicas de alta agresividad contra los organismos dañinos, pero cuyos efectos sobre el hombre y diversos ecosistemas continúan siendo debatidos (Fernández *et al.*, 2003)

Según la definición dada por la FAO (1989), plaguicida es “una sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo vectores de enfermedad humana o animal, especies indeseadas de plantas o animales capaces de causar daños o interferir de cualquier otra forma con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o mercado de los alimentos, otros productos agrícolas, madera y sus derivados o alimentos animales, o que pueden ser administrados a los animales para el control de insectos, arácnidos u otras plagas en sus organismos”. Los plaguicidas constituyen un grupo de sustancias altamente heterogéneo de composiciones y usos muy variables.

Clasificación de los plaguicidas: (Ministry of agriculture, 1979; Henao y Corey, 1991)

Según el tipo de organismo que se desea controlar: Insecticidas, acaricidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, molusquicidas, rodenticidas, avicidas.

Según grupo químico del principio activo: Entre estos, destacan por su amplio uso doméstico y agrícola: compuestos organofosforados, compuestos carbamatos, compuestos

organoclorados, piretroides, derivados de bupiridilo, triazinas, tiocarbamatos, derivados del ácido fenoxiacético, derivados de la cumarina, derivados del cloronitrofenol y compuestos organomercuriales.

Según su persistencia en el medio ambiente: persistentes, poco persistentes, no persistentes.

Según su toxicidad aguda (O.M.S.): Esta se basa principalmente en la toxicidad por vía oral en ratas y ratones. Usualmente la dosis se registra como DL50 (Dosis Letal Media), que es la dosis necesaria para matar el cincuenta por ciento de la población de animales de prueba y se expresa en términos de mg/kg del peso del cuerpo del animal.

Los organoclorados fueron los primeros insecticidas ampliamente usados, iniciándose su aplicación masiva en la década del cuarenta. El diclorodifeniltricloroetano (DDT) es el más conocido de estos productos, seguido del diclorodifenildicloroetano (DDD) y el diclorodifenildicloroetileno (DDE) (Stickel, 1973).

El DDE puede ser encontrado en la naturaleza como un producto de degradación del DDT. El DDE es uno de los más prevalentes porque es más resistente a la degradación en los tejidos animales y en el medio ambiente (Stickel, 1973). El DDE produce fragilidad de la cáscara del huevo. En el pasado, se documentaron problemas en la reproducción de una amplia variedad de especies de aves, entre las cuales destacan: el águila pescadora (*Pandion haliaetus*), el halcón peregrino (*Falco peregrinus*) y el águila calva (*Haliaeetus leucocephalus*). El uso general del DDT, fue restringido en 1972 por la agencia de protección medioambiental de Estados Unidos (EPA) y la población de estas aves rapaces comenzó a recuperarse lentamente desde esa fecha (Spitzer y Poole, 1980; Grier, 1982). Desafortunadamente el DDT aún arrastra problemas en especies de vida silvestre debido a su persistencia en el medio y su uso en algunos lugares de Centro y Sudamérica. Los organoclorados se almacenan en la grasa corporal, lo cual puede constituir un riesgo de exposición subletal, ya que esa grasa puede ser movilizada durante un período de estrés alimentario y traer como resultado la intoxicación del individuo (Stickel, 1973).

Los organofosforados se desarrollaron después de la II Guerra Mundial, a partir de los gases de guerra (gas sarín, entre otros). A partir del último tercio del siglo XX se generalizó su uso, debido a que representaban una “excelente alternativa a los persistentes organoclorados”. A diferencia de estos últimos, son mucho menos estables en el ambiente. A pesar de ello, pueden provocar efectos adversos en numerosas especies de vida silvestre;

principalmente intoxicaciones agudas y los efectos particularmente destacables que se observan producto de la exposición a dosis bajas, que si bien no se evidencian con mortalidades masivas, producen efectos a largo plazo tales como: alteraciones conductuales, de termorregulación y en la reproducción que podrían afectar la viabilidad de poblaciones silvestres (Robles *et al.*, 2007).

En 1999, los organofosforados y carbamatos correspondían al 21% y 5% respectivamente, del volumen total de insecticidas usados en la Unión Europea (Eurostat, 2002).

Propiedades de los plaguicidas organofosforados: (Milla y Palomino, 2002).

Liposolubles: Fácil absorción a través de membranas biológicas.

Mediana tensión de vapor: lo que los hace volátiles y por lo tanto de fácil absorción por la vía respiratoria.

Degradables: sufren hidrólisis en medio alcalino, lo que los hace poco persistentes en el medio ambiente.

Los compuestos organofosforados son ésteres amidas o tioderivados del ácido fosfórico, fosfónico, fosforotioico o fosfonotioico. Cuando el átomo que se une al fósforo con el doble enlace es el oxígeno, el compuesto que se forma se denomina oxón y es un potente inhibidor de la colinesterasa, puesto que producen una unión muy estable llamada fosforilación (Sorgob-Sánchez y Vilanova-Gisbert, 2002)

Propiedades de los carbamatos:

Los carbamatos empleados como insecticidas tienen baja presión de vapor, baja solubilidad en agua. La primera etapa de su degradación metabólica en el suelo es la hidrólisis.

Los compuestos carbámicos son activos inhibidores de las colinesterasas sin embargo su acción dura pocas horas, la carbamilación enzimática es fácilmente reversible.

Muchos casos de incidentes de intoxicación en fauna silvestre han sido asociados con este tipo de compuestos, especialmente en aves rapaces (De Snoo *et al.*, 1999; Goldstein *et al.*, 1999^b; Mineau *et al.*, 1999).

Metabolismo de los inhibidores de la colinesterasa:

Se absorben fácilmente, son muy liposolubles por lo que atraviesan la barrera hematoencefálica, su vida media es corta en plasma y tienen un elevado nivel de distribución en los tejidos. Los organofosforados son clasificados en arilfosfatos y alquilfosfatos. Los arilfosfatos requieren ser activados por enzimas microsomales hepáticas. Los alquilfosfatos no requieren activación. Los organofosforados son bien absorbidos por las vías cutáneomucosa (dérmica y conjuntiva), respiratoria y digestiva.

Tienen un amplio volumen de distribución y son metabolizados en el hígado a través de una detoxificación por citocromo P450, generándose, en ocasiones, compuestos aún más tóxicos. Los arilfosfatos son convertidos en formas más tóxicas. Su excreción es por la orina. Su vida media de eliminación de 3 horas a 2 días (Sorgob-Sánchez y Vilanova-Gisbert, 2002).

Los carbamatos pueden absorberse a través de las vías respiratorias, el tracto gastrointestinal y con mayor dificultad por la piel. Se eliminan por metabolización hepática (Sorgob-Sánchez *et al.*, 2004).

Los carbamatos tienen un amplio margen entre la dosis que produce síntomas y la que provoca la muerte. Producen poca o ninguna acción sobre el SNC y si bien pueden cruzar la barrera hematoencefálica, lo hacen en mucho menor grado que los organofosforados, por lo que las manifestaciones colinérgicas centrales son mínimas o están ausentes (Grue *et al.* 1997).

Mecanismo de acción de organofosforados y carbamatos:

Para entender el mecanismo de acción de los pesticidas inhibidores de la colinesterasa, es necesario entender el mecanismo de acción de la sinapsis colinérgica y en especial el de la enzima acetilcolinesterasa.

La acetilcolina media el cambio de potencial de membrana para la transmisión de impulsos nerviosos, es un neurotransmisor en muchas sinapsis (colinérgicas) del sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático) y en las conexiones neuromusculares (placas motoras). Los receptores pueden ser de varios tipos: muscarínicos (se bloquean con muscarina), nicotínicos (se bloquean con nicotina). Actúan en algunas sinapsis del sistema nervioso central y en las inervaciones del músculo esquelético (receptores muscarínicos); igualmente en las del músculo liso, corazón y glándulas endocrinas del sistema autónomo (Gisbert, 1998).

La acetilcolinesterasa, enzima presente en la terminación postsináptica, hidroliza rápidamente a la acetilcolina, lo que conlleva la repolarización de la membrana o de la placa basal (en las conexiones neuromusculares) y las prepara para la llegada de un nuevo impulso. Así, la función normal de la acetilcolina depende de su rápida hidrólisis por la acetilcolinesterasa. La acción de la acetilcolina debe ser muy rápida, cerca de 1/1500 segundos, esto permite la brevedad y unidad de los impulsos propagados sincrónicamente. El ácido acético liberado pasa a sangre, mientras que la colina es recuperada por las neuronas para la síntesis de nuevas moléculas del neurotransmisor (Fairbrother, 1996; Gisbert, 1998; Robles *et al.*, 2007).

Los compuestos organofosforados inhiben de manera competitiva a la acetilcolinesterasa, impidiendo la hidrólisis de la acetilcolina. La acetilcolina se acumula entonces en el espacio sináptico alterando la normal propagación del impulso nervioso. La acumulación del neurotransmisor se produce en las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos), en las uniones mioneurales del esqueleto y ganglios autónomos (efectos nicotínicos) y en el sistema nervioso central (Fairbrother, 1996; Gisbert, 1998; Robles *et al.*, 2007).

Toxicidad:

La inhibición de la acetilcolinesterasa, produce un aumento de la acetilcolina en las terminaciones motoras y una mayor fuerza en la contracción muscular, que puede llegar a ocasionar fasciculaciones y en casos graves, un bloqueo neuromuscular despolarizante mantenido con la consiguiente parálisis muscular, lo que resulta en el caso de las aves en problemas motores que pueden causar supresión del vuelo y caídas, derivando en otras complicaciones como fracturas, traumatismos, entre otros (Robles *et al.*, 2007).

La acetilcolina que se acumula en el espacio sináptico, tiene como resultado una estimulación ininterrumpida que termina con la parálisis de los músculos respiratorios y la muerte por asfixia (Fairbrother, 1996).

Tipos de colinesterasas:

Colinesterasa verdadera, acetilcolinesterasa, colinesterasa eritrocitaria, específica o de tipo c: se encuentra unida a las membranas de las neuronas, en las sinapsis ganglionares de las uniones neuromusculares y en los eritrocitos. Esta forma de acetilcolinesterasa

eritrocitaria está presente en los mamíferos, no así en las aves, por lo que la medición de sus niveles no puede ser considerada como una herramienta diagnóstica el caso de la intoxicación de aves (Thompson, 1991).

Esterasas B o pseudocolinesterasas: se llaman esterazas “B” a la acetilcolinesterasa, la butirilcolinesterasa y las carboxilesterasas. Estas enzimas son hidrolasas que se encuentran en el plasma y son inhibidas por los pesticidas organofosforados y carbamatos, además participan en su detoxificación (Roy *et al.*, 2005). El término actividad de colinesterasa se refiere a la actividad de la acetil y la butirilcolinesterasa en conjunto (Thompson, 1991).

Según lo descrito por Thompson (1991), la actividad colinesterasa en suero o plasma es altamente sensible a la inhibición y usualmente ocurre en forma rápida. Por esto mismo, la medición de la actividad colinesterasa es considerada un indicador altamente específico de la exposición a pesticidas del tipo organofosforados y carbamatos (Mineau *et al.*, 2001).

Consecuencias de la exposición a compuestos organofosforados y carbamatos en la fauna silvestre:

La mortalidad de fauna silvestre dentro y alrededor de los campos tratados es uno de los signos más visibles del impacto de un plaguicida. Más de treinta plaguicidas registrados en Norteamérica y Europa han sido reconocidos como causantes de la muerte de aves silvestres y mamíferos (Mineau *et al.*, 2001), incluso cuando se utilizan de acuerdo a las instrucciones de restricción relativa que existen en esos países.

Los organofosforados y carbamatos son productos químicos, a los cuales se les atribuido un rol en la muerte de varias especies de fauna silvestre (Mineau y Collins, 1988; ; US EPA 1989; Stinson, 1991; Mineau, 1993). Por ejemplo, sólo en Estados Unidos, entre los años 1980 y 2000, se documentaron 335 casos de mortalidad en aves atribuidos a estos pesticidas (Fleischli *et al.*, 2004). Entre estos, han sido reportados incidentes, tales como mortalidad de pavos silvestres (*Meleagris gallopavo*) (Nettles, 1976), aves rapaces (Henny *et al.*, 1987), gaviotas (Hill y Fleming, 1982), y paseriformes (Augspurger *et al.*, 1996). Stone y Gradoni (1985), reportaron 54 episodios de mortalidad de aves causados por diazinón y Littrell (1988), describió 22 incidentes en aves acuáticas y paseriformes causados por el carbofurán.

Susceptibilidad:

En términos generales, las aves son más sensibles a las intoxicaciones por organofosforados que los mamíferos (DL50 aves < DL50 mamíferos) (Hill, 1995). Smith (1987), describe que algunas especies de aves acuáticas presentan mayor riesgo de exposición a cantidades letales de organofosforados y carbamatos, por ingestión de granos y forraje contaminados. Además, los datos de toxicidad aguda indican que las aves acuáticas son mucho más sensibles a los efectos tóxicos de algunos organofosforados y carbamatos que los mamíferos.

La susceptibilidad a la intoxicación con plaguicidas está dada también, por factores como la edad, el sexo, la condición corporal, entre otros. Generalmente son los embriones y los polluelos los más susceptibles a sufrir una intoxicación (Friend *et al.*, 1999).

Si bien la mortalidad es uno de los primeros signos apreciables en un episodio de intoxicación con plaguicidas, también es posible observar signología en los animales que fueron afectados y sobrevivieron a la exposición al compuesto.

Signos clínicos y alteraciones conductuales comúnmente asociados con la intoxicación de organofosforados y carbamatos: (Hudson *et al.*, 1984; Mineau, 1991)

Convulsiones, hiperexcitabilidad, incoordinación muscular (ataxia), debilidad muscular (miastenia), dificultad respiratoria (disnea), respiración rápida (taquipnea), vómitos, defecación, diarrea, contracción espasmódica del ano o cloaca (tenesmo), letargia, flexión de cabeza y miembros hacia atrás (opistotónos), parálisis, ceguera, contracción pupilar(miosis), dilatación pupilar (midriasis), caída de los párpados (ptosis), protrusión ocular (exoftalmia), lagrimación, sed excesiva (polidipsia), sangrado nasal (epistaxis), piloerección (plumas erizadas en el caso de las aves).

Así, se pueden encontrar por lo menos tres tipos de presentación del cuadro de intoxicación:

Cuadros Agudos: se produce un exceso de actividad colinérgica, responsable de la sintomatología que aparece entre los 30 minutos y 2 horas después de la exposición (Porter y Snead, 1990). Así, se observa un síndrome colinérgico que produce una alteración del sistema nervioso central caracterizado por ataxia, temblor, convulsiones, polidipsia y erección del plumaje, un síndrome muscarínico (hiperestimulación de receptores muscarínicos) unido a trastornos digestivos, como diarrea, dolor abdominal, ptialismo y

finalmente un síndrome nicotínico (hiperestimulación de receptores nicotínicos) acompañado de fasciculaciones y calambres musculares, debilidad, parálisis de musculatura estriada (Robles *et al.*, 2007). En el caso de los carbamatos, dependen de su toxicidad intrínseca, de la dosis y de la vía de absorción, siendo superponible al descrito para los organofosforados en relación con los efectos muscarínicos y nicotínicos periféricos, pero de menor intensidad y duración (Robles *et al.*, 2007).

Cuadros crónicos: pueden aparecer a las 2-4 semanas de exposición al pesticida. Se produce una axonopatía sensoriomotora distal con pérdida sensorial, debilidad muscular progresiva, flacidez de músculos esqueléticos distales de extremidades (Crespo y Falero, 2003; Robles *et al.*, 2007). Los pesticidas inhibidores de la colinesterasa pueden inhibir también a la esterasa neuropática, esta inhibición junto con un incremento de calcio intracelular, por alteración de la enzima calcio-calmodulina-quinasa II, parecen constituir el mecanismo de producción de la neuropatía retardada, caracterizada por la desmielinización y degeneración axónica (Grue *et al.* 1997).

Cuadros intermedios: se presenta entre las 24-96 horas después de la intoxicación y tras haber superado la fase colinérgica, caracterizado por afectar a los músculos respiratorios, proximales de las extremidades y flexores del cuello; este síndrome, puede persistir durante varios días y acompañarse de una importante insuficiencia ventilatoria (Robles *et al.*, 2007).

La presentación del cuadro clínico depende del tipo de pesticida, de la vía de entrada, de la dosis o cantidad de pesticida que efectivamente ingresa al organismo afectado y de la susceptibilidad genética individual (Hill, 1995). Entre los pesticidas que se han documentado su efecto sobre las aves silvestres, se encuentran el paratión, fosfamidón o monocrotofós (Goldstein *et al.*, 1999^a).

Efectos sobre funciones fisiológicas:

Se han descrito efectos de los organofosforados en distintas funciones fisiológicas tales como: termorregulación (Murphy, 1969; Kozar *et al.*, 1976; Rattner y Franson, 1984), alteraciones en la función endocrina, metabolismo y reproducción (Murphy, 1969; Rattner y Franson, 1984), alteraciones de ritmo circadiano, percepción sensorial (Grue *et al.*, 1991) y alteraciones conductuales (Bishop *et al.*, 2000).

Diagnóstico:

El diagnóstico de los casos de intoxicación con inhibidores de colinesterasa se basa en la historia, el examen post mortem, la demostración de una inhibición mayor al cincuenta por ciento de la actividad de la acetil colinesterasa cerebral y la detección de residuos de organofosforados o carbamatos en el contenido gastrointestinal (Hill y Fleming, 1982; Fairbrother, 1996).

Los primeros métodos utilizados para medir la actividad de la acetilcolinesterasa fueron desarrollados al final del año 1920 y estaban centrados en estimar la tasa de formación de ácido acético, proveniente de la hidrólisis de la acetilcolina a pH fisiológico. El primer método fue el que usaba el sistema de “buffer” bicarbonato (Wills, 1972) y medía la producción de CO₂ para cuantificar la hidrólisis (Técnica manométrica).

Otros métodos que fueron probados, medían el cambio de pH que se producía por la ionización del ácido acético (Stedman *et al.*, 1932). Serlin y Cotzias (1955), describieron un método usando microdifusión para medir la producción de ácido acético durante la reacción de hidrólisis.

La consecuencia natural fue que los métodos que medían el pH se desarrollaran más tarde como métodos colorimétricos. Los primeros métodos consistían en medir el cambio en un indicador ácido base como lo era el rojo fenol (Caraway, 1956).

Hestrin (1949), implementó un método colorimétrico que medía la cantidad de acetilcolina que no reaccionaba con la enzima, la acetilcolina que no se hidrolizaba se unía a hidroxilamina, produciendo un reactivo de color medible espectrofotométricamente.

Koelle *et al.* (1950), descubrió productos tioanálogos de los ésteres de colina, que servían como sustrato de la acetilcolinesterasa, Meyer y Wildbrandt (1954), desarrollaron un método que cuantificaba los grupos sulfhidrilos formados durante la hidrólisis de los ésteres de colina mediante la reacción de estos con 2,6 diclorofenol o con 5,5 dithiobis-(2-ácido nitrobenzoico) (DTNB), midiendo el producto coloreado espectrofotométricamente.

Finalmente, fue Ellman *et al.* (1961), quien desarrolló el método espectrofotométrico con el uso del DTNB como reactivo de color y este método, modificado por Hill y Fleming (1982), sigue siendo uno de los métodos más ampliamente usado en el diagnóstico de la exposición e intoxicación a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa. Se ha utilizado en distintos tipos de muestras biológicas, entre las que se encuentran: cerebro (Fleischli *et al.*, 2004), agallas de peces (Gelman y Herzberg, 1979),

fluido cerebro espinal de humanos (Coutselinis y Boukis, 1978), sangre completa (Brust *et al.*, 1971), eritrocitos (Ganlin *et al.*, 1964) y plasma (Wilson, 2001). Se ha usado, además en muchas especies animales (Hill y Fleming, 1982), con diferentes sustratos. Es fácilmente adaptable para usar con analizadores automáticos y permite procesar rápidamente un gran número de muestras. Este método ha llegado a ser el método de elección en Estados Unidos e Inglaterra para el monitoreo de especies silvestres expuestas a plaguicidas.

El método colorimétrico de Ellman *et al.* (1961), modificado por Hill y Fleming (1982), provee una forma eficiente de monitoreo de campo y diagnóstico de exposición de fauna silvestre a productos inhibidores de colinesterasa. Este procedimiento tiene la ventaja de ser rápido, barato y no requiere de una sofisticada implementación de laboratorio (Ludke *et al.*, 1975).

Fuentes de variabilidad del método de Ellman:

Existen múltiples factores que pueden afectar los resultados en un estudio de exposición a inhibidores de colinesterasa cuando se utiliza el método Ellman *et al.* (1961), modificado por Hill y Fleming (1982), entre estos factores se mencionan:

- Introducción de compuestos anticolinesterásicos dentro de las muestras
- Presencia de plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en las muestras
- Efectos de anticoagulantes
- Efectos de almacenamiento
- Técnicas de homogeneización y centrifugación
- Instrumental de laboratorio
- Preparación de los reactivos
- Temperatura
- pH
- Muestras lipémicas
- Efectos de cationes mono o divalentes
- Estabilidad de la enzima inhibida.

Situación en Chile:

La Agricultura en Chile, comprende sistemas de producción intensivos muy dependientes del uso de plaguicidas (Rozas, 1999). El volumen total de plaguicidas importados al año se ha triplicado desde la década de los ochenta a la actualidad (Rozas 1999).

La actual normativa de plaguicidas de uso agrícola del Ministerio de Agricultura faculta al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) para reglamentar y controlar la producción, importación, distribución y aplicación de estos compuestos. La resolución N° 3670 (1999) involucra las normas para la evaluación y autorización de todo tipo de plaguicida agrícola fabricado, importado o utilizado en el país.

Aún así, la información que existe en el país respecto al uso de plaguicidas es escasa y dispersa, sobre todo en lo que concierne al daño que estos causan en el medio ambiente y aún más específicamente en la fauna que habita los lugares de aplicación de estos productos.

HIPÓTESIS

1) Los ejemplares capturados post aplicación deberán presentar una menor actividad de colinesterasa plasmática al comparar con aves capturadas previo a la aplicación.

2) Dado que el efecto de los inhibidores de colinesterasa es transitorio, las aves capturadas previo a la aplicación deberán presentar valores similares a aquéllas capturadas en el sitio control.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de esta memoria de título es medir los niveles de colinesterasa en plasma de jilgueros (*Carduelis barbatus*) expuestos a pesticidas del tipo organofosforados y carbamatos en predios frutícolas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los niveles de colinesterasa en plasma de especímenes de jilguero capturados pre y post aplicación de pesticidas en un predio frutícola, por medio de determinación espectrofotométrica basada en el método Ellman (1961), modificado por Hill y Fleming (1982).

2. Caracterizar los niveles normales de actividad colinesterasa en plasma de jilgueros muestreados en sectores sin aplicación de pesticidas agrícolas mediante la misma técnica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fechas y ubicación del estudio: el trabajo de campo se realizó en dos etapas: la primera, en el periodo comprendido entre el 13 de diciembre del año 2004 y el 22 de marzo del año 2005, dentro del Fundo Santa María (Figura N° 1, fotografía (A)), perteneciente a Agroelite S.A., en la localidad de El Olivar, Sexta región, Chile. Las capturas se hicieron 72 h previo a la aplicación y entre 24 y 72 h posteriores a una aplicación conocida de pesticida inhibidor de la acetilcolinesterasa. La segunda etapa se llevó a cabo entre el 28 de octubre y el 14 de diciembre del año 2005. Este grupo corresponde a aves capturadas en la Cuesta Chacabuco (Figura N° 1, fotografía (B)), Región Metropolitana, en sectores arbustivos con *Acacia caven* como especie vegetal predominante y que representan áreas libres de aplicación de pesticidas.

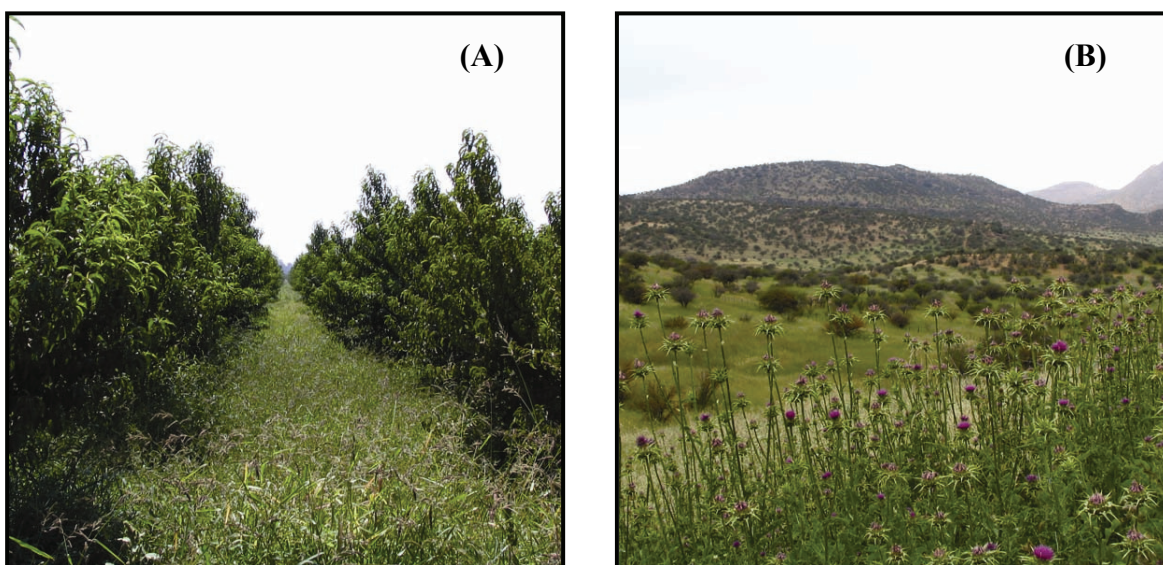


Figura N° 1: Fotografía (A) Fundo Santa María; fotografía (B) Cuesta Chacabuco.

Especie estudiada: (Araya y Millie, 1986; Jaramillo, 2003)

Nombre científico: *Carduelis barbatus* (Molina, 1782)

Nombre común: Jilguero, canario.

Distribución en Chile: Desde el valle de Copiapó hasta Tierra del Fuego.

Hábitat: zonas de matorrales y arboladas.

Descripción: Largo: 13 - 14 cms.

Macho: (Figura N° 2, fotografía (A)) cabeza amarilla verdosa más oscura hacia la nuca y corona negra. Cuello amarillo verdoso con la parte delantera y garganta negra. Dorso amarillo verdoso oscuro rayado longitudinalmente de negruzco. Pecho amarillo verdoso y abdomen más blanquecino. Alas con rémiges negras y mancha amarilla en la base de las primarias y secundarias; cobertoras oscuras con punta amarilla formando dos líneas de ese color.

Hembra: (Figura N° 2, fotografía (B)) similar al macho, careciendo de la corona y garganta negras. Partes inferiores menos amarillentas y más verdosas. Frecuenta en primavera los campos cultivados, huertos y jardines cercanos de las casas de poblados y fundos, dispersándose en invierno por los valles y llanuras, alimentándose principalmente de semillas. Anida en Septiembre o meses antes si el invierno es suave, armando un nido en bifurcaciones de ramas en árboles frutales. Este nido es del tipo taza abierta, hecho con pastos, musgos y fibras y forrado interiormente con plumas y lanas. En su interior coloca de 3 a 6 huevos blancos con ligero tono celeste liso y a veces con insinuaciones de pintas finas de tono café. Tamaño promedio de 18 x 13 mm.

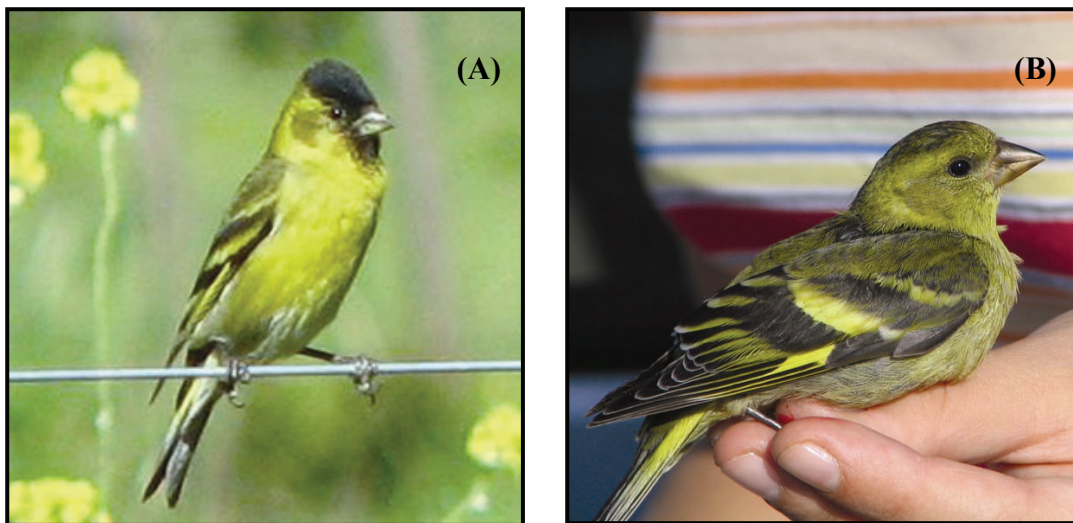


Figura N° 2: Fotografía (A) *C. barbatus macho*; fotografía (B) *C. barbatus hembra*

Obtención del material biológico: las aves fueron capturadas con redes niebla (Figura N° 3) de 30 mm y 2,6 x 6m Las capturas se realizaron entre las siete y las 11 de la mañana y entre las 18 y 20 h por la tarde. Una vez capturadas las aves se procedió a tomar una muestra de sangre por punción yugular (Figura N° 4), con jeringa de tuberculina con aguja de 27G x ½", la que fue almacenada en frío en tubos Ependorf de 1,5 mL con

EDTA (Figura N° 4). Las aves fueron marcadas bajo el ala y liberadas una vez tomada la muestra.



Figura N° 3: Fotografía de red niebla utilizada para la captura de ejemplares.

En el caso de las muestras tomadas en el fundo Santa María, diariamente, al terminar la recolección de muestras éstas fueron llevadas al laboratorio DECORMUN ubicado en la ciudad de Rancagua, en el que se llevó a cabo la centrifugación de las muestras a 2.000 x g por 10 min y se separó el plasma el que fue almacenado a -20 °C.

En el caso de las muestras de Chacabuco, el proceso de centrifugación se realizó en terreno con una minicentrífuga (C-1200 de National Labnet).

El posterior análisis se realizó en la Estación Cuarentenaria y Laboratorio Lo Aguirre del Servicio Agrícola y Ganadero.



Figura N° 4: Fotografía de muestra de sangre colectada en terreno.

Análisis de las muestras:

Determinación espectrofotométrica de actividad colinesterasa en plasma. Basado en el método Ellman (1961), modificado por Hill y Flemming (1982): éste es un método colorimétrico para la medición de actividad de colinesterasa (ChE) en plasma y cerebro. Se utiliza en investigación toxicológica en vida silvestre, para detectar exposición a pesticidas inhibidores de colinesterasa (organofosforados y carbamatos). El descenso de la actividad ChE bajo los niveles normales de las especies, se usa a menudo como evidencia de la exposición y en el caso de mortalidad, la causa de la muerte (Ludke *et al.*, 1975). La cantidad mínima detectable por este método, ha sido estimada en alrededor de 50 $\mu\text{mol}/\text{min}$ por litro de plasma y 0,2 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ para tejido cerebral.

Reactivos

- Fosfato de sodio dibásico, Na_2HPO_4 , (M.W. 141.96, Fisher S-374).
- Fosfato de potasio monobásico, KH_2PO_4 , (M.W. 136.09, Fisher P-285).
- 5,5' Ditiobos-(2 ácido nitrobenzoico) (DTNB), cristalino, (M.W. 396.40, Sigma D-8130).
- Yoduro de acetiltiocolina (AThChI), cristalino, (M.W. 289.20, Sigma A-5751).
- Agua purificada con el sistema Milli RO / Milli-Q.

Soluciones

- Fosfato de sodio 0,05 M (7,1 g de Na_2HPO_4 en agua y csp. 1L).
- Fosfato de potasio 0,05 M (0,68 g de KH_2PO_4 en agua y csp. 100 mL).

- Fosfato “buffer” 0,05 M, pH 7,9 (a temperatura ambiente) (68 mL de solución de fosfato de potasio a 932 mL de solución de fosfato de sodio).
- DTNB, $2,5 \times 10^{-4}$ M en “buffer” pH 7,9 (49,5 mg de DTNB en fosfato buffer pH 7,9 y diluir a 500 mL). Mantener en una botella ámbar y refrigerado.
- Yoduro de acetiltiocolina (AthChI) 0,156 M. (225 mg de AthChI en agua y diluir a 5 mL para tener una concentración final de sustrato de 5×10^{-3} M) (o 45 mg en 5 mL para tener una concentración final de sustrato de 1×10^{-3} M).

Cristalería y Elementos de Laboratorio

- Pipetas (Biohit 5000 o Rainin y Gilson Pipetman 100 μ L).
- Jeringa vidrio Hamilton con aguja fija, 25 μ L.
- Pipetas de transferencia desechables.
- Cubetas acrílicas desechables, 1 cm iluminación (Sarstedt 67.738).
- Frascos volumétricos, 100 y 500 mL y 1 L.
- Tubo de vidrio graduado, 5 mL.
- Vasos de laboratorio, 250 mL y 1 L.
- Botella dispensadora (para el agua purificada).
- Tubos, microcentrífuga.
- Criovales, 1,0 ó 1,8 mL.

Equipamiento

- Sonda de temperatura (medidor pH – Instrumentos Hanna H18417).
- Medidor pH (Medidor PerpHect, Modelo 350, VWR).
- Balanza analítica (Sartorius RC210P) y balanza de carga superior (Mettler PM4000).
- Baño de agua (instrumento de precisión) para preincubar las probetas.
- Agitador vortex.
- Agitador magnético y barra magnética.

Instrumentación

- Espectrofotómetro UV-VIS.

Análisis

1. Encender el espectrofotómetro una hora previa al análisis.
2. Dispensar 2,65 mL de solución “buffer” 4-PDS (cromógeno) en un tubo de ensayo, preincubar en baño de agua.
3. Cuando la temperatura alcance los 27° C, se agregan 20 µL de plasma.
4. Cuando la temperatura alcance los 30 ± 0,2 °C, se agregan 100 µl de la solución sustrato (yoduro de acetiltiocolina).
5. Se transfiere la solución a una cubeta espectrofotométrica y se procede a la lectura de la absorbancia cada 15 segundos durante un minuto, 60 segundos después de agregado el sustrato.
6. Como material de control se utiliza QUALITROL ® HSN, suero liofilizado cuyos valores de actividad colinesterasa fluctúan entre 1760 y 2540 µmol/min/L.
7. Expresión de resultados: La actividad de la enzima se reporta en µmol de sustrato hidrolizado por minuto por litro de sangre a 30° C y se calcula con la siguiente fórmula.

Actividad: $\Delta A / \text{min} \times \text{volumen de ensayo (ml)} \times 1000$.

Coef. Abs. x espesor de la cubeta (cm) x volumen de muestra.

Donde:

ΔA : cambio en absorbancia

1000: convertir desde unid./mL a unid./L.

Coef abs: coeficiente de absorbancia para ácido tionitrobenzoico a 405 nm

Análisis de resultados: los resultados se expresaron en términos de media y desviación estándar. Se compararon las medias de los grupos, se consideró un nivel de significancia de $p < 0,05$ para la prueba t - Student para muestras independientes. Los análisis se realizaron con STATISTICA versión 6.0.

Consideraciones Legales y de Bioseguridad: todas las capturas de aves fueron autorizadas mediante resoluciones exentas N° 4905 y N° 5569, las que fueron emitidas

por el Departamento de Protección de Recursos Naturales Renovables del Servicio Agrícola y Ganadero, cuyas copias van anexas al final de la memoria (Anexo N° 4).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el periodo comprendido entre el 13 de diciembre del año 2004 y el 22 de marzo del año 2005, se capturó un total de de 45 ejemplares de *Carduelis barbatus* en el predio Agroelite; del total de ejemplares capturados, 26 correspondieron a individuos capturados mínimo tres días antes de una aplicación conocida de un pesticida inhibidor de colinesterasa (Anexo N° 5) y 19 a individuos capturados máximo tres días después de la aplicación del mismo producto (Anexo N° 2).

Tabla N° 1: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus* en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.

Aplicación (PRE. y POST.)	Número de muestras de plasma	Actividad promedio ChE $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor mínimo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor máximo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Desviación estándar
PRE	26	759,96	222,36	1.421,91	292,30
POST	19	871,25	333,53	1.392,65	235,58

Para evaluar el ajuste de los datos a la distribución normal, se empleó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se compararon los promedios (Tabla N° 1) de actividad de colinesterasasa plasmática, entre el grupo de individuos capturados previo con el grupo capturado posterior a una aplicación, mediante la prueba de t de Student para muestras independientes, (Figura N° 5) no encontrándose diferencia significativa entre los grupos ($p > 0,05$).

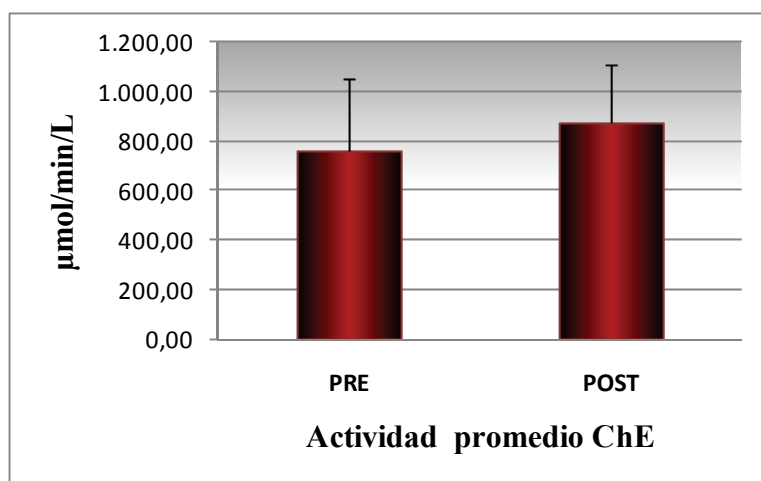


Figura N° 5: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus* en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.

Estos resultados difieren con lo obtenido por Wilson *et al.* (2001), en un estudio realizado en Okanagan Valley, British Columbia, en el que se midió la actividad de colinesterasa plasmática en codornices californianas (*Callipepla californica*) en un sector con plantaciones de manzanas. En este trabajo las muestras tomadas entre dos y 24 horas post aplicación, presentaron valores significativamente menores que los obtenidos previo a la aplicación del organofosforado azinphos-methyl. Wilson *et al.* (2001), tomaron además, muestras 10 días después de la aplicación y los niveles de colinesterasa plasmáticas ya estaban cercanos a los valores normales. Los resultados de la presente memoria, coinciden con lo descrito por Gill *et al.* (2000), quienes no encontraron diferencias entre la actividad de colinesterasa plasmática previo y posterior a la aplicación del mismo pesticida evaluado en el estudio anterior (azinphos-methyl).

Durante las capturas realizadas en el fundo Santa María, se obtuvieron muestras de plasma de otras especies. La especie que siguió al jilguero en número de ejemplares capturados, correspondió al Fio-fio (*Elaenia albiceps*). Especie migratoria, que frecuenta Chile desde septiembre hasta abril aproximadamente (Jaramillo, 2003). Se obtuvieron 31 muestras de plasma de esta especie (Anexo 3) de las cuales, 23 fueron tomadas previo a una aplicación y 8 posterior a una aplicación, al comparar los promedios de actividad de colinesterasa plasmática mediante una prueba de t de Student, se obtuvo un resultado concordante con lo obtenido para *C. barbatus*, no encontrándose diferencia significativa en la actividad enzimática posterior a la aplicación (Tabla 2 y Figura 6).

Lamentablemente no fue posible conseguir muestras control de esta especie, lo que impidió obtener información sobre una posible inhibición de la actividad enzimática.

Tabla N° 2: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Elaenia albiceps* en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.

Aplicación (PRE. y POST.)	Número de muestras de plasma	Actividad promedio ChE $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor mínimo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor máximo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Desviación estándar
PRE	23	548,00	134,58	1.228,81	254,02
POST	8	573,44	234,06	1.111,78	314,54

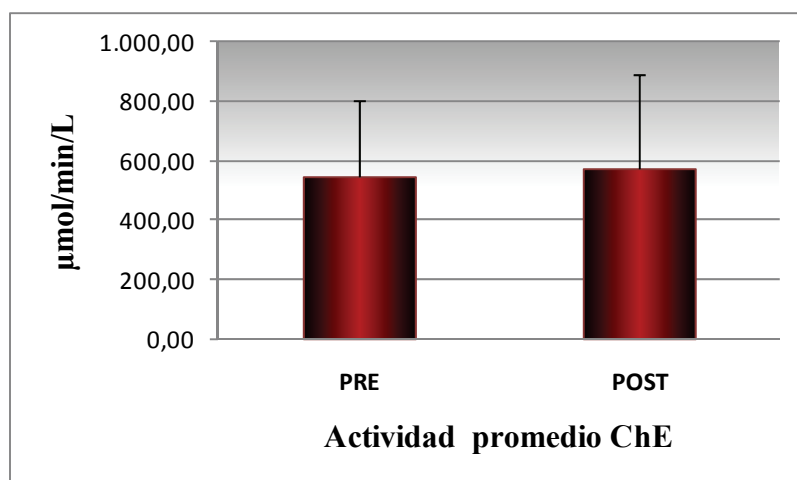


Figura N° 6: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Elaenia albiceps* en predio Agroelite, previo y posterior a aplicación de plaguicidas.

Existe discusión en cuanto al tiempo que transcurre entre la exposición y el momento de máxima inhibición de la enzima y luego, el tiempo que transcurre hasta la completa recuperación de la actividad enzimática en el plasma, en las distintas especies de aves. Por ejemplo, Zinkl *et al.* (1980), describieron que la máxima inhibición de la actividad de la colinesterasa causada por el fosforado acephato ocurre seis días después de la exposición en un tipo de gorrión (*Spizella passerina*). Graham y Descranges (1993), encontraron que la actividad de colinesterasa plasmática vuelve a sus rangos normales dos días después de la exposición a azinphos-methyl. Estos estudios demuestran lo variable de la respuesta enzimática a la exposición a plaguicidas en las distintas especies, lo cual puede llevar a cometer errores en la interpretación de los resultados cuando se comparan actividades enzimáticas antes y después de una aplicación. Sin embargo, este sigue siendo

un recurso utilizado en este tipo de estudios, ya que es un problema común en el desarrollo de las investigaciones con fauna silvestre, la ausencia de una línea base, en este caso particular, de los niveles normales de actividad de colinesterasa en plasma. Numerosos estudios (Mineau y Collins 1988; Gill *et al.*, 2000), han demostrado la gran diferencia de susceptibilidad toxicológica y ecológica que existe entre especies. Es por esto, que en términos probabilísticos el riesgo de cometer un error del tipo II (en este caso, no detectar un evento de exposición o intoxicación) es mucho mayor (Mineau, 2002). Con motivo de disminuir el riesgo de cometer este error, en la presente memoria además de las muestras obtenidas en el predio Agroelite, se obtuvieron 24 muestras de plasma de jilgueros capturados en la Cuesta Chacabuco (Anexo N° 1), en el periodo comprendido entre el 28 de octubre y el 14 de diciembre del año 2005. Este lugar corresponde a espinales típicos de la región mediterránea de la zona central de Chile, en el cual circulan libremente varias especies de aves silvestres. El cual se eligió por representar el ecosistema natural, comúnmente usado por *C. barbatus*.

El promedio de actividad de colinesterasa de las aves capturadas en el predio Agroelite fue de $806,95 \pm 272,65$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$ y el promedio de la actividad enzimática de las aves de la Cuesta Chacabuco fue de $1022,78 \pm 385,36$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$ (Tabla N° 3). Se contrastó la diferencia de las medias entre el grupo de aves capturadas en el predio Agroelite y el grupo de aves de la Cuesta Chacabuco, mediante la prueba de t de Student para muestras independientes (Figura N° 7), evidenciándose diferencia significativa entre ambos grupos ($p < 0,05$).

Tabla N° 3: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus*

Sitio de muestreo	Número de muestras de plasma	Actividad promedio ChE $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor mínimo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor máximo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Desviación estándar
Agroelite	45	806,95	222,36	1.421,91	272,65
Chacabuco	24	1.022,79	532,48	2.118,23	385,37

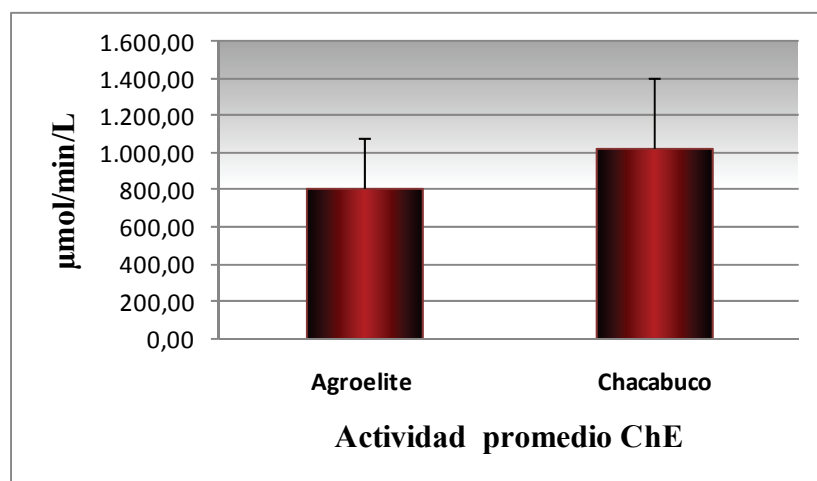


Figura N° 7: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus* en predio Agroelite y en Cuesta Chacabuco.

Estos resultados evidencian un descenso significativo en la actividad de colinesterasa plasmática de las aves capturadas en el predio frutícola. Este descenso puede ser atribuible a la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos, tal como se concluyó en el estudio realizado por Mc Innes *et al.* (1996), trabajo en el que se atribuye exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, mediante la demostración de un descenso en la actividad enzimática en plasma de aves del orden de los passeriformes utilizando el método Ellman (1961), modificado por Hill y Flemming (1982).

Se ha discutido la variación de la actividad de colinesterasa entre sexos, según Rattner y Fairbrother (1991), no se ha documentado variación de la actividad de acetilcolinesterasa a nivel cerebral entre machos y hembras, sin embargo a nivel de plasma puede haber diferencias de esta actividad entre sexos. Por ejemplo, en pato mallard (*Anas platyrhynchos*) machos y hembras poseen actividades de colinesterasa iguales, mientras que en el cernícalo (*Falco sparverius*), los machos poseen una actividad mayor que las hembras (Rattner y Fairbrother, 1991).

En la presente memoria de título, se compararon mediante una prueba de t de Student, los promedios de actividad de colinesterasa plasmática entre machos y hembras del predio frutícola (Tabla 4 y figura 8) y entre machos y hembras del sitio control (Tabla 5 y figura 9), No encontrándose diferencia significativa entre sexos para la especie *C. barbatus* ($p>0,05$).

Tabla 4: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus* machos y hembras en predio Agroelite.

Sexo	Número de muestras de plasma	Actividad promedio ChE $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor mínimo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor máximo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Desviación estándar
Machos	13	856,01	479,82	1.304,88	242,71
Hembras	31	805,24	333,53	1.421,91	270,24

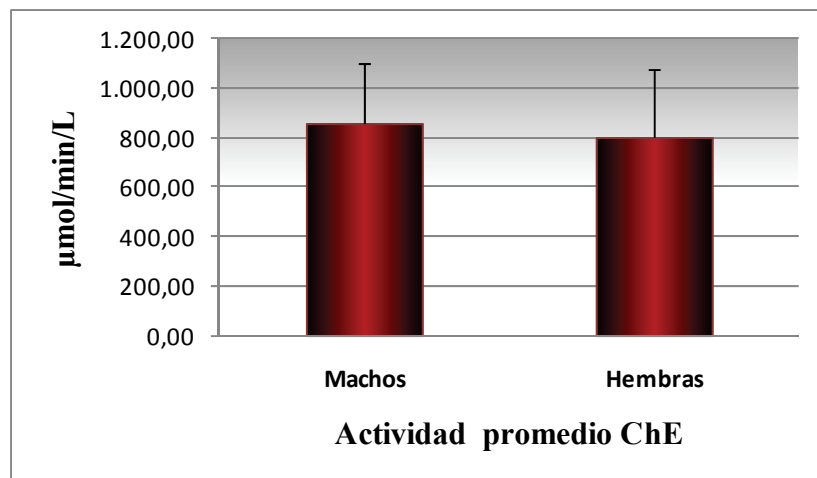


Figura N° 8: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus*, machos y hembras en predio Agroelite.

Tabla 5: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus* machos y hembras en cuesta Chacabuco.

Sexo	Número de muestras de plasma	Actividad promedio ChE $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor mínimo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Valor máximo $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{L}$	Desviación estándar
Machos	12	1.032,30	631,96	2.118,23	465,68
Hembras	12	1.013,28	532,48	1.790,55	305,71

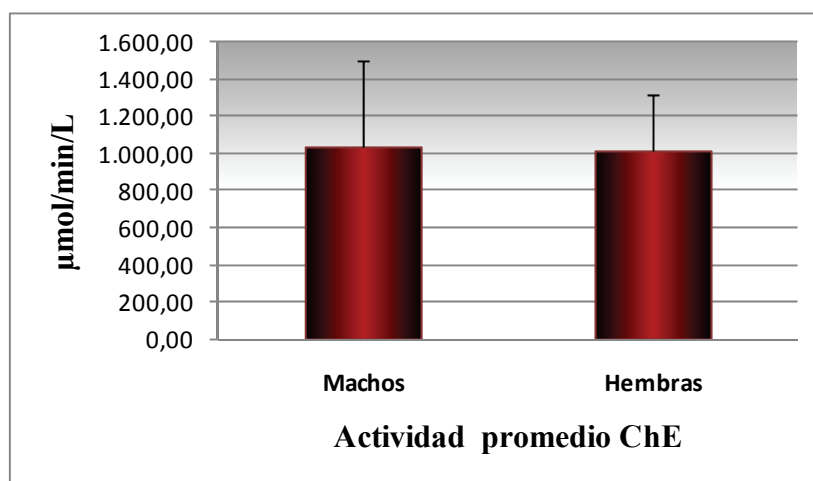


Figura N° 9: Promedio actividad colinesterasa (ChE) plasmática de *Carduellis barbatus*, machos y hembras en Cuesta Chacabuco.

Llevar a cabo un estudio de campo para medir el efecto de un patrón específico de plaguicida (o la ausencia de este) consiste usualmente en la vigilancia de las aves individualmente y/o las poblaciones avícolas antes, durante y después de la aplicación del plaguicida (Mineau, 2002). En el presente estudio las muestras tomadas en el predio Agroelite, fueron programadas para ser realizadas antes y después de la aplicación de plaguicidas inhibidores de la colinesterasa. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre los grupos, lo que (en ausencia de línea base) puede ser interpretado como la ausencia de un efecto inhibidor de los plaguicidas.

En los años 70 se produjo conmoción entre la comunidad científica al conocerse los nefastos efectos de los pesticidas bioacumulables como el DDT, lo cual llevó a que los pesticidas organofosforados y carbamatos pasaran a ser ampliamente usados, ya que no persisten en los sistemas biológicos. Los pesticidas organofosforados y carbamatos poseen una alta toxicidad, pero generalmente causan cuadros agudos o los individuos sobreviven

al cuadro mediante una rápida metabolización y eliminación del metabolito tóxico. Sin embargo, en los últimos años numerosos investigadores (Grue *et al.*, 1997), han llamado la atención sobre los cuadros “crónicos” de intoxicación con pesticidas inhibidores de la acetilcolinesterasa. Busby *et al.* (1983), señalaron la existencia de dos tipos diferentes de respuesta (grado de inhibición de la actividad ChE) en aves cantoras salvajes frente a diferentes dosis de aplicación de fenitrotión. Con altas dosis, las aves estudiadas mostraban una rápida depresión de la actividad de la colinesterasa, directamente correlacionada con el contenido corporal de residuos y una lenta recuperación correlacionada con el tiempo pasado desde la aplicación. Ante dosis menores, observaron una respuesta crónica con un aumento de inhibición de la ChE con el tiempo y sin correlación con el contenido corporal de residuos. Busby *et al.* (1983), sugieren que la respuesta crónica es función de la exposición a los metabolitos via ingestión y contacto en el tiempo y del aumento de la formación de fenitrooxon, como resultado de la inducción de la función mixta de la oxidasa. Mientras que la respuesta aguda resulta de la exposición a altas dosis vía inhalación, penetración dérmica e ingestión del compuesto primario en el momento de la aplicación. Este podría ser el caso de las aves capturadas en el predio Agroelite, ya que son aves que habitan un sector con manejos intensivos de plaguicidas, por lo que podrían estar a expuestas de manera constante a estos químicos y presentar un tipo de exposición a niveles subletales y tener las consecuencias de una exposición crónica.

La exposición subletal a inhibidores de la colinesterasa, puede producir cambios en el comportamiento de las aves los que pueden afectar las habilidades parentales y por ende, la supervivencia de sus polluelos (Bishop *et al.*, 2000). En estos casos de exposición a inhibidores de colinesterasa que no provocan la muerte de los individuos afectados, cobra importancia la medición de la colinesterasa plasmática ya que un bajo nivel de actividad, se considera un potencial indicador de exposición subletal a un plaguicida organofosforado o carbamato (Thompson, 1991). En muchos casos de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos, la inhibición de la acetilcolinesterasa es tan rápida que no se alcanza a producir la inhibición a nivel cerebral (Mineau, 2002), esto ocurre particularmente en el caso de los carbamatos ya que generalmente no atraviesan la barrera hematoencefálica, por lo que la medición de la colinesterasa plasmática sería un método adecuado de monitoreo de exposición y como herramienta para predecir probables cuadros subletales o crónicos. Además, por ser un método no letal permite tomar muestras seriadas

de un mismo individuo o de una población, lo que permitiría estimar una inhibición de la enzima en ausencia de una línea base. Este punto es de particular importancia, ya que la interpretación de los resultados depende del conocimiento de los niveles “normales” de la enzima, lo que para poblaciones silvestres siempre es una dificultad. Por último, la actividad de colinesterasa plasmática ha sido descrita como un buen indicador para predecir la inhibición de la acetilcolinesterasa a nivel cerebral (Thompson, 1991).

La efectividad del uso de la inhibición de la colinesterasa como biomarcador en organismos vivos, en particular de animales colectados en campo, depende de la calidad en los valores de control y de que las muestras inhibidas puedan ser demostradas que son significativamente diferentes de los valores de control (Ludke *et al.*, 1975; Hill y Fleming, 1982).

El diagnóstico final en casos de intoxicación, se debe hacer en base a la demostración de un grado de inhibición mayor o igual al 50 % de la actividad de la acetilcolinesterasa en el cerebro, junto con la presencia residual de carbamatos u organofosforados, en la carcasa (Ludke *et al.*, 1975). Sin embargo, las mediciones periódicas de colinesterasa plasmática otorgarían un método efectivo de monitoreo para prevenir eventos más graves de mortalidades masivas.

El método colorimétrico de Ellman *et al.* (1961), modificado por Hill y Fleming (1982), se ha consolidado como la prueba de referencia o estándar para medir la actividad de la colinesterasa, tanto en los tejido cerebral como en el plasma. Aunque existen otros métodos más precisos, como queda demostrado en la realización de esta memoria, este es un método sencillo y confiable de amplio uso (Ludke *et al.*, 1975; Mineau, 2002), pero que debe ser usado teniendo en cuenta todos los factores que pueden conducir problemas de interpretación y tratando de reducir al máximo las posibilidades de error.

CONCLUSIONES

- 1) No se encontraron diferencias significativas entre la actividad de colinesterasa plasmática de jilgueros capturados previo a la aplicación de plaguicidas inhibidores de colinesterasa, con jilgueros capturados posterior a la aplicación.
- 2) Al comparar los valores de actividad enzimática de las aves capturadas en un sitio libre de fumigaciones con las aves capturadas en el predio tipo de manejo agrícola, se encontraron diferencias significativas. Lo que indicaría inhibición enzimática en las aves del predio, posiblemente por una exposición constante a inhibidores de la colinesterasa.
- 3) La medición de la colinesterasa plasmática, provee un método eficiente para detectar exposición a plaguicidas, sin embargo los resultados obtenidos deben ser interpretados con cautela, debido a la gran cantidad de fuentes de variación antes descritas.
- 4) Este trabajo constituye una aproximación al uso de la medición de la colinesterasa en plasma, como método de monitoreo de la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos.

REFERENCIAS

- ANDRADE, F.H.; SADRAS, V.O.** 2000. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja. Ed. Médica Panamericana, Balcarce. Argentina 443 pp.
- ARAYA, B.; MILLIE, G.** 1986. Guía de campo de las aves de Chile. Ed. Universitaria. Santiago, Chile. 406 pp.
- AUGSPURGER, T.; SMITH, M.R.; METEYER, C.U.; CONVERSE, K.A.** 1996. Mortality of passerines adjacent to a North Carolina corn field treated with granular carbofuran. *J. Wildl. Dis.* U.S. 32: 113-116.
- BISHOP, C.A.; NG, P.; MINEAU, P.; QUINN, J.S.; STRUGER, J.** 2000. Effects of pesticide spraying on chick growth, behavior, and parental care in tree swallows (*Tachycineta bicolor*) nesting in an apple orchard in Ontario, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 2286-2297.
- BRUST, R.A.; MIYAZAKI, S.; HODGSON, G.C.** 1971. Effect of Dursban in the drinking water of chicks. *J. Econ. Entomol.* Winnipeg, Canada. 64: 1170-1181.
- BUSBY, D.G.; PEARCE, P.A.; GARRITY, N.R.; REYNOLDS, L.M.** 1983. Effect of an organophosphorus insecticide on brain cholinesterase activity in white-throated sparrows exposed to aerial forest spraying. *J. Appl. Ecol.* 20: 255-263.
- CANAVELLI, S.; ZACCAGNINI, M.E.** 1996. Mortandad de Aguilucho Langostero (*Buteo swainsoni*) en la Región Pampeana: Primera Aproximación al Problema. INTA, Informe de Proyecto. Argentina 52 pp.
- CARAWAY, W.T.** 1956. Photometric determination of serum cholinesterase activity. *Am. J. Clin. Path.* 26: 945-955.
- COUTSELINIS, A.; BOUKIS, D.** 1978. The diagnosis of organophosphorus fatal intoxication by the AChE activity in CSF. *Arch. Toxicol.* 40:155-158.
- CRESPO, E.; FALERO, M.P.** 2003. Intoxicaciones por plaguicidas. In: Manual de intoxicaciones en pediatría. Santiago Mintegi Raso (Ed). Madrid, España. pp. 169-180.
- DeSNOO, G.R.; SCHEIDEGGER, N.M.I.; DEJONG, F.M.W.** 1999. Vertebrate wildlife incidents with pesticides: A European survey. *Pest. Sci.* 55: 47-54.
- EPA; UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.** 1989. Carbofuran. Special review technical support document. US Environmental Protection Agency. Washington DC, U.S.A. 250 pp.
- ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, V.JR.; FEATHERSTONE, R.M.** 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88-95.

- EUROSTAT. 2002.** Theme 8: Environment and sustainable development. The use of plant protection products in the European Union-Data 1992-1999. Eurostat, Luxembourg, 132 pp.
- FAIRBROTHER, A.** 1996 Cholinesterase inhibiting pesticides. In: Fairbrother A, Locke, L.N.; Hogg, G.L. (Eds). Non-infectious diseases of wildlife. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. pp. 52-60.
- FAO.** 1989. Guidelines for Legislation on the Control of Pesticidas. Food and Agricultura Organization of the United Nations. [En línea]. <http://www.fao.org> [consulta 19/01/2007].
- FERNÁNDEZ, F.; PUTZE, M.; RODRÍGUEZ, G.** 2003. Intoxicaciones por productos Agrícolas: Anticolinesterásicos. Y Paraquat. Emergencias 9: 18-22.
- FLEISCHLI, M.A.; FRANSON, J.C.; THOMAS, N.J.; FINLEY, D.L.; RILEY, W.JR.** 2004. Avian mortality events in the United States caused by anticholinesterase pesticides: a retrospective summary of National Wildlife Health Center records from 1980 to 2000. Arch. Environ. Contam. Toxicol 46: 542-550.
- FRIEND, M; TOWEILL, D.E.; BROWNELL JR. R.L.; NETTLES, V.F.; DAVIS, D.S.; FOREYT, W.J.** 1999. Guidelines for the proper care and use of wildlife in field research. In: Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. Friend, M. and Franson, J.C. (Eds). U.S. Department of the Interior, U.S. Geological Survey: pp. 53-71.
- GANLIN, R.S.; CUETO, C.; MAIL, G.A.** 1964. Exposure to parathion. J. Amer. Med. Assoc 88: 807-810.
- GELMAN, A.; HERZBERG, A.** 1979. A field method to certify whether fish died from poisoning by acetilcholinesterase inhibition. Bull. Fish Cult. Israel 31:18-20.
- GILL, H.; WILSON, L.K.; CHENG, K.M.; TRUDEAU, S.; ELLIOTT, J.E.** 2000. Effects of azinphos-methyl on American robins breeding in fruit orchards. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 65(6): 756-63.
- GISBERT, S.A.** 1998. Medicina legal y Toxicología. 5ta. Edición. Editorial Masson S.A., Barcelona, España. 807 pp.
- GOLDSTEIN, M.I.; LACHER, T.E.; WOODBRIDGE, JR.B.; BECHARD, M.J.; CANAVELLI, S.B.; ZACCAGNINI, M.E.; COBB, G.P.; SCOLLON, E.J.; TRIBOLET, R.; HOOPER, M.J.** 1999a. Monocrotophos-induced mass mortality of Swainson's hawks in Argentina, 1995-1996. Ecotoxicology 8: 201-214.
- GOLDSTEIN, M.I.; LACHER, T.E.; WOODBRIDGE, B.; BECHARD, M.J.; CANAVELLI, S.E.; ZACCAGNINI, M.E.; COBBS, G.P.; SCOLLON, E.J.; TRIBOLET, R.; HOPPER, M.J.** 1999b. Monitoring and assessment of Swainson's Hawks in Argentina following. Ecotoxicology 8: 215-224.

- GRAHAM, D.J.; DESGRANGES, J.L.** 1993. Effect of azinphosmethyl on birds of potato fields and apple orchards. *Agricult. Ecosys. Environ.* 43: 183-199.
- GRIER, J.W.** 1982. Ban of DDT and subsequent recovery of reproduction in bald eagles. *Science* 218: 1232-1235.
- GRUE, C.E.; HART, A.D.M.; MINEAU, P.** 1991. Biological consequences of depressed brain cholinesterase activity in wildlife. In Mineau P. (Ed.). *Cholinesterase-inhibiting Insecticides-Impacts on Wildlife and the Environment*. Elsevier Science Publishers B.Y., Amsterdam, The Netherlands. pp. 151-209.
- GRUE, C.E.; GIBERT, P.L.; SEELEY, M.E.** 1997. Neurophysiological and behavioral changes in non-target wildlife exposed to organophosphate and carbamate pesticides: thermoregulation, food consumption, and reproduction. *Amer. Zool.* 37: 369-388.
- HENAO, S.; COREY, O.** 1991. Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Programa de Salud Ambiental. OPS y OMS. México 20: 4-5.
- HENNY, C.J; KOLBE, E.J; HILL, E.F; BLUS, L.J.** 1987. Case histories of bald eagles and other raptors killed by organophosphorus insecticides topically applied to livestock. *J. Wildl. Dis.* 23: 292-295.
- HESTRIN, S.** 1949. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives and its clinical applications. *J. Biol. Chem.* 180: 249-261.
- HILL, E.F.; FLEMING, W.J.** 1982. Anticholinesterase poisoning of birds: field monitoring and diagnosis of acute poisoning. *Environ. Toxicol. Chem.* 1: 27-38.
- HILL, E. F.** 1995. Organophosphorus and carbamate pesticides. In: D. J. Hoffman, B. A. Rattner, G. A. Burton, Jr & J. Cairns, Jr. (Eds.), *Handbook of Ecotoxicology*. Lewis, Boca Raton, Florida, USA. pp. 243-274.
- HOOPER, M.; MINEAU, P.; ZACCAGNINI, M.E.; WOODBRIDGE, B.** 2002. Pesticides and International Migratory Bird Conservation. In: Hoffman *et al.*, (Eds.) *Handbook of Ecotoxicology*. Lincoln, CRC Press. pp 737-753.
- HUDSON, R.H.; TUCKER, R.K.; HAEGELE, M.A.** 1984. *Handbook of Toxicity of Pesticides to Wildlife*. US Fish and Wildlife Service. Washington DC, U.S.A. 153: 90 p.
- JARAMILLO, A.** 2003. *Birds of Chile*. Princeton University Press. Princeton and Oxford. USA. 240 pp.
- KOELLE, G.B.; KOELLE, E.S.; FRIEDENWALD, J.S.** 1950. The effect of inhibition of specific and non-specific cholinesterase on motility of the isolated ileum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 100: 180-191.

- KOZAR, M.D.; OVERSTREET, D.H.; CHIPPENDALE, T.C.; RUSSELL, R.W.** 1976. Changes of acetylcholinesterase activity in three major brain areas and related changes in behaviour following acute treatment with diisopropyl fluorophosphate. *Neuropharmacology*. 15 (5): 291-298.
- LITTRELL, E.E.** 1988. Waterfowl mortality in rice fields treated with the carbamate, carbofuran. *Calif. Fish Game* 74: 226–231.
- LUDKE, J.L.; HILL, E.F.; DIETER, M.P.** 1975. Cholinesterase (ChE) response and related mortality among birds fed ChE inhibitors. *Archiv. Environ. Contam. Toxicol.* 3: 1-21.
- MATSUMURA, F.** 1985. *Toxicology of insecticides*. 2nd Edition. Plenum Press, New York, USA. 598 pp.
- MC INNES, P.F.; ANDERSEN, D.E.; HOFF, D.J.; HOOPER, M.J.; KINKEL, L.L.** 1996. Monitoring exposure of nestling songbirds to agricultural application of an organophosphorus insecticide using cholinesterase activity. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 544-552.
- McLAUGHLIN, A.; MINEAU, P.** 1995. The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agricult. Ecosys. Environ.* 55: 201-212.
- MEYER, A.; WILBRANDT, W.** 1954. On the determination of the activity of the cholinesterase in human blood. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta.* 12: 206-216.
- MILESON, B.E.; CHAMBERS, J.E.; CHEN, W.L.; DETTBARN, W.; EHRICH, M.; ELDEFRAWI, A.T.; GAYLOR, D.W.; HAMERNIK, K.; HODGSON, E.; KARCZMAR, A.G.; PADILLA, S.; POPE, C.N.; RICHARDSON, R.J.; SAUNDERS, D.R.; SHEETS, L.P.; SULTATOS, L.G.; WALLACE, K.B.** 1998. Common mechanism of toxicity: A case study of organophosphorus pesticides. *Fundam. Appl. Toxicol.* 41: 8-20.
- MILLA, O.M.; PALOMINO W.R.** 2002. Niveles de colinesterasa sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas. Departamento académico de Farmacología, Bromatología y Toxicología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú. 81 pp.
- MINEAU, P.; COLLINS, B.T.** 1988. Avian mortality in agroecosystems. 2. Methods of detection. In: M. P. Greaves, B. D. Smith, and P. W. Greig-Smith, (Eds.). *Field methods for the study of environmental effects of pesticides*. Croydon, UK: British Crop Protection Council. Monograph N° 40. pp. 13-27.
- MINEAU, P.** 1991. Cholinesterase-inhibiting Insecticides, Their impact on wildlife and the environment, In: *Chemicals in agriculture v. 2*. Elsevier Science Publishing. Amsterdam, The Netherlands. 348 pp.

- MINEAU, P.** 1993. The hazard of carbofuran to birds and other vertebrate wildlife. Canadian Wildlife Service Technical Report No. 177. Ottawa, Canada: Headquarters, Canadian Wildlife Service, Environment Canada; 96 pp.
- MINEAU, P.; FLETCHER, M.R.; GLASER, L.C.; THOMAS, M.J.; BRASSARD, C.; WILSON, L.K.; ELLIOTT, J.E.; LYON, L.A.; HENNY, C.J.; BOLLINGER, T.; S.L. PORTER.** 1999. Poisoning of raptors with organophosphorus and carbamate pesticides with emphasis on Canada, US and UK. *J. Raptor Res.* 33: 1–37.
- MINEAU, P.; BARIL, A.; COLLINS, B.T.; DUFFE, J.; JOERMAN, G.; LUTTIK, R.** 2001. Pesticide acute toxicity reference values for birds. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 170:13–74.
- MINEAU, P.** 2002. Estimating the probability of bird mortality from pesticide sprays on the field study record. *Environ. Toxicol. Chem.* 21(7): 1497-1506.
- MINISTRY OF AGRICULTURE.** 1979. Fisheries and Food, Pesticides Branch: Pesticides Safety Precautions Scheme. London, United Kingdom, Ministry of Agriculture. 225 pp.
- MURPHY, S.D.** 1969. Some relationships between effects of insecticides and other stress conditions: *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 160: 366-377.
- NETTLES, V.F.** 1976. Organophosphate toxicity in wild turkeys. *J. Wildl. Dis.* 12: 560–561.
- O'BRIEN, R.D.** 1967. Insecticides: Action and metabolism. Academic Press Inc., New York, USA. 332 pp.
- PORTER, S.L.; SNEAD, S.E.** 1990. Pesticide poisoning in bird of prey. *J. Assoc. Avian Vet.* 2: 84-85.
- RATTNER, B.A.; FRANSON, J.C.** 1984. Methyl parathion and fenvalerate toxicity in American kestrels: Acute physiological responses and effects of cold. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62: 787–792.
- RATTNER, B. A.; FAIRBROTHER, A.** 1991. Biological variability and the influence of stress on cholinesterase activity. In: Cholinesterase-inhibiting insecticides, P. Mineau (Eds.). Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, The Netherlands: pp. 89-107.
- ROBLES, J.A.; HERNÁNDEZ, T.J.; LUQUE, G.** 2007. Tratamiento de la intoxicación por organofosforados en aves rapaces RCCV Vol. 1 (2). 1988-2688.
- ROZAS, M.** 1999. Catastro de Conflictos Ambientales por plaguicidas Bolivia - Perú - Chile. Observatorio Latinoamericano de Conflictos Ambientales. 229 pp.
- ROY, C.; GRILLEAU, G.; CHAMOULAND, S.; RIVIÉRE, J.L.** 2005. Plasma B-Esterase activities in European raptors. *J. Wildl. Dis.* 41: 184-208.

- SERLIN, I.; COTZIAS, G.C.** 1955. Microdiffusion of acetic acid as an assay for acetylcholinesterase. *J. Biol. Chem.* 215 (1): 263-268.
- SMITH, G.J.** 1987. Pesticide use and toxicology in relation to wildlife: Organophosphate and carbamate compounds. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Resource Publication 170, USA. 171 pp.
- SORGOB-SÁNCHEZ, M.A.; VILANOVA-GISBERT, E.** 2002. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol. Lett.* 128: 215-228.
- SORGOB-SÁNCHEZ, M.A.; VILANOVA-GISBERT, E.; CARRERA GONZÁLEZ, V.** 2004. Nuevas perspectivas en los tratamientos de intoxicaciones por insecticidas organofosforados y agentes nerviosos de guerra. *Rev. Neurol.* 39 (8): 739-747.
- SPITZER, P.R.; POOLE, A.F.** 1980. Coastal Ospreys between New York City and Boston: a decade of reproductive recovery 1969-1979. *Amer. Birds*, 34: 234-241.
- STEDMAN, E.; STEDMAN, E.; EASSON, L.H.** 1932. Choline-esterase. An enzyme present in the blood-serum of the horse. The Department of Medical Chemistry, University of Edinburgh. *Biochem. J.* 26 (6): 2056–2066.
- STICKEL, L.F.** 1973. Pesticide residues in birds and mammals, In *Environmental Pollution by Pesticides*, Edwards, C. A. Ed. Plenum Press. London,UK. 254 pp.
- STINSON, E.R.** 1991. Wildlife mortality associated with furadan 15G use on Virginia corn fields during the 1991 growing season. Virginia Department of Game and Inland Fisheries. Final report to the Virginia Pesticide Control Board; 26 pp.
- STONE, W.B.; GRADONI, P.B.** 1985. Wildlife mortality related to use of the pesticide diazinon. *Northeast. Environ. Sci.* 4: 30–38.
- THOMPSON, H.** 1991. Serum “B” esterases as indicator of exposure to pesticides. In: *Cholinesterase-inhibiting insecticides: their impact on wildlife and the environment*. P. Mineau (Ed.), Elsevier, Amsterdam, pp. 109-125.
- TREMBLAY, A.; MINEAU, P.; STEWART, K.R.** 2001. Effects of bird predation on some pest insect populations in corn. *Agricult. Ecosys. Environ.* 83: 143–152.
- VIGLIZZO, E.F.** 2001. La Trampa de Malthus-Agricultura. In: *Competitividad y medio ambiente en el siglo XXI*, Editorial Universidad de Buenos Aires. Argentina. pp. 90-91.
- WILLS, J.H.** 1972. The measurement and significance of changes in the cholinesterase activities of erythrocytes and plasma in man and animals. *CRC Critical. Rev. Toxicol.*, 1: 153-202.

WILSON, L.; MARTIN, P.A.; ELLIOTT J.E.; MINEAU P.; CHENG K.M. 2001. Exposure of California quail to organophosphorus insecticides in apple orchards in the Okanagan valley, British Columbia. *Ecotoxicology* 10:79-90.

WOODBIDGE, B.; FINLEY, K.; SEAGER, S. 1995. An investigation of the Swainson's Hawk in Argentina. *J. Raptor Res.* 29: 202-204.

ZINKL, J.G.; ROBERTS, R.B.; HENNY C.J.; LENHART D.J. 1980. Inhibition of brain cholinesterase activity in forest birds and squirrels exposed to aerially applied acephate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 676-683.

ANEXOS

Anexo N° 1: Valores de colinesterasa plasmática de *Carduellis barbatus* capturados en la Cuesta Chacabuco.

Clave	sexo	Fecha de captura	Actividad enzimática μmol/min/L
C1	M	28/10/2005	801,65
C4	M	28/10/2005	854,31
C5	H	30/10/2005	918,68
C9	H	30/10/2005	1.193,70
C10	H	30/10/2005	901,13
C11	H	30/10/2005	930,38
C13	H	30/10/2005	860,17
C15	M	01/11/2005	953,79
C17	M	01/11/2005	1.866,62
C18	H	01/11/2005	748,99
C20	M	01/11/2005	708,03
C22	H	01/11/2005	1.100,08
C23	H	01/11/2005	532,48
C24	M	01/11/2005	942,09
C26	M	02/11/2005	889,42
C27	M	02/11/2005	906,98
C28	H	06/11/2005	1.790,55
C29	M	06/11/2005	631,96
C30	H	24/11/2005	1.158,59
C31	M	24/11/2005	702,18
C34	H	02/12/2005	942,09
C35	M	14/12/2005	1.012,30
C36	H	14/12/2005	1.082,52
C37	M	14/12/2005	2.118,23

Anexo N° 2: Valores de colinesterasa plasmática de *Carduellis barbatus* capturados en Fundo Agroelite.

Clave	sexo	Fecha de captura	Actividad enzimática μmol/min/L
4	M	14/12/2004	560,34
24	H	24/01/2005	509,08
43	H	01/02/2005	772,39
48	H	03/02/2005	760,69
33	H	25/01/2005	514,93
88	H	03/03/2005	550,04
37	M	28/01/2005	1.304,88
25	M	24/01/2005	1.088,37
28	H	24/01/2005	444,71
31	H	24/01/2005	842,61
32	H	25/01/2005	784,10
52	H	04/02/2005	813,35
53	M	04/02/2005	942,09
54	M	04/02/2005	784,10
63	H	10/02/2005	1.035,71
51	H	03/02/2005	561,74
55	H	09/02/2005	532,48
58	H	09/02/2005	866,02
67	H	11/02/2005	778,24
50	M	03/02/2005	778,24
61	H	10/02/2005	737,28
57	H	09/02/2005	544,19
49	H	03/02/2005	988,90
56	M	09/02/2005	754,84
62	H	10/02/2005	1.041,56
60	H	09/02/2005	1.421,91
76	M	27/02/2005	825,06
79	H	27/02/2005	333,53
89	H	03/03/2005	1.281,47
82	H	27/02/2005	1.135,18
83	M	27/02/2005	994,75
80	M	27/02/2005	1.111,78
84	H	27/02/2005	971,34
90	H	03/03/2005	655,36
92	M	03/03/2005	479,82
93	H	03/03/2005	661,22
94	Juvenil	03/03/2005	222,36
99	H	11/03/2005	1.392,65
95	H	03/03/2005	760,69
98	H	11/03/2005	567,59
100	H	11/03/2005	830,91
81	H	27/02/2005	1.029,86
68	H	11/02/2005	842,61
77	M	27/02/2005	959,64
59	M	09/02/2005	544,19

Anexo N° 3: Valores de colinesterasa plasmática de *Elaenia albiceps* capturados en Fundo Agroelite.

Clave	Fecha de captura	Actividad enzimática μmol/min/L
1	13/12/2004	444,71
2	13/12/2004	374,49
3	14/12/2004	538,33
5	14/12/2004	257,46
6	17/12/2004	397,90
7	17/12/2004	257,46
9	17/12/2004	374,49
17	20/12/2004	234,06
26	24/01/2005	620,26
27	24/01/2005	544,19
29	24/01/2005	450,56
30	24/01/2005	713,88
34	25/01/2005	438,86
35	25/01/2005	491,52
36	28/01/2005	591,00
38	30/01/2005	555,89
39	30/01/2005	497,37
40	30/01/2005	1.111,78
41	30/01/2005	959,64
42	30/01/2005	374,49
47	02/02/2005	269,17
64	10/02/2005	766,54
65	10/02/2005	877,72
66	10/02/2005	748,99
69	14/02/2005	1.228,81
72	15/02/2005	1.006,45
73	15/02/2005	409,60
74	16/02/2005	134,58
75	16/02/2005	579,29
78	27/02/2005	585,15
91	03/03/2005	356,94

Anexo N° 4: Permisos de captura.

783

07 DIC 2004



GOBIERNO DE CHILE
SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO

División de Protección de Recursos Naturales Renovables
Subdepartamento de Vida Silvestre



Resolución N° 1-93.2004

EXENTA

AUTORIZA A LILIANA ORTIZ TOLHUYSEN, LA CAPTURA DE
AVES CON FINES CIENTÍFICOS.

SANTIAGO,

07 DIC 2004

4905

N° _____ / VISTOS: Lo solicitado por el interesado con fecha 24 de noviembre de 2004; la Ley 19.473; el Decreto de Agricultura N° 5 de 1998; la Resolución N° 863 de 10 de abril de 1999 del Director Nacional Servicio Agrícola y Ganadero; la Resolución N° 2073 de 2003 del Director Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero; y, la Ley N° 18.755, Orgánica de este Servicio.

RESUELVO

PRIMERO: Autorízase a la Srta. Liliana Patricia Ortíz Tolhuysen, RUT N°13.829.609-1, con domicilio en Augusto Villanueva 390, depto. 308, Ñuñoa, Santiago, la captura y liberación de ejemplares de los órdenes Passeriformes y Columbiformes y Codorniz Californiana (*Callipepla californica*) bajo las condiciones de la presente Resolución.

SEGUNDO: Se autoriza la captura, sin restricción de número, de los órdenes Passeriformes y Columbiformes, mediante redes niebla, y Codorniz Californiana mediante trampas para codornices, en el predio Agroelite ubicado en las afueras de Doñihue, VI Región, a contar desde la fecha de esta Resolución y hasta el 31 de marzo de 2005.

Los ejemplares capturados deberán ser liberados en los mismos sitios de colecta, en un plazo no mayor a 1 hora, luego de realizados los procedimientos planteados en la investigación, incluida la extracción de muestras de sangre de los mismos.

En la captura se autoriza la participación del Sr. Rodrigo Castro Bustamante, RUT N°13.902.800-7.

Para las capturas y liberaciones, el interesado deberá contar con la autorización de los respectivos propietarios de los predios en que se realicen.

TERCERO: En forma previa a la colecta, los interesados deberán informar por escrito, a la Dirección Regional SAG VI Región (fax 71-235747), las fechas y sitios específicos de captura y liberación.

CUARTO: Una vez concluidas las actividades de terreno, la interesada deberá enviar a la Dirección Regional SAG correspondiente y a la División de Protección de Recursos Naturales Renovables, un informe donde señale la cantidad de ejemplares capturados y liberados, así como detalles acerca del esfuerzo de captura empleado. En caso de existir alguna publicación originada en la autorización otorgada, se deberá enviar copia de las mismas, debiendo hacer referencia en ellas del permiso expedido.

En el caso que la captura de los individuos no sea efectuada, la interesada deberá informar el hecho a la División de Protección de Recursos Naturales Renovables.

QUINTO: Toda infracción a las disposiciones contenidas en la Ley de Caza y su Reglamento, y a la autorización que se le ha otorgado será sancionada por el Servicio Agrícola y Ganadero.

ANÓTESE Y COMUNÍQUESE



CTG

DISTRIBUCIÓN:

Srta. Lilliana P. Ortiz Tolhuysen, Augusto Villanueva N°390, depto . 308, Ñuñoa

Director Regional SAG VI Región.

DIPROREN.

Of. de Partes.

760
14 OCT 2005



GOBIERNO DE CHILE
SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO

División de Protección de Recursos Naturales Renovables
Subdepartamento de Vida Silvestre

Vida Silvestre Nº 1-100.2005

EXENTA

AUTORIZA A LA SRA. LILIANA ORTIZ TOLHUYSEN, LA CAPTURA DE AVES SILVESTRES, CON FINES CIENTIFICOS.

SANTIAGO,

14 OCT 2005

5569



/ VISTOS: Lo solicitado por el interesado con fecha 30 de septiembre de 2005; la Ley 19.473; el Decreto de Agricultura Nº 5 de 1998; la Resolución Nº 2073 de 2003 del Director Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero; y la Ley Nº 18.755, Orgánica de este Servicio.

RESUELVO

PRIMERO: Autorízase a la Sra. Liliana Ortiz Tolhuysen, RUT Nº 13.829.609-1, con domicilio en Augusto Villanueva 390 depto. 308, Comuna de Ñuñoa, la captura y liberación de ejemplares del orden Passeriforme, bajo las condiciones de la presente Resolución.

SEGUNDO: Se autoriza la captura, sin restricción de número, de aves del orden Passeriforme (*Elaenia albiceps* y *Cardellius barbatus*), mediante redes niebla y trampas de llamadores, en el sector Región Metropolitana, a contar desde la fecha de esta resolución hasta el 31 de diciembre de 2005.

Los ejemplares capturados una vez identificados deberán ser liberados en el mismo sitio de captura, dentro de un plazo no mayor a 1 hora, luego de realizados los procedimientos planteados en la investigación, incluida la extracción de muestras de sangre de los mismos.

En la captura se autoriza la participación del Sr. Rodrigo Castro Bustamante, RUT Nº 13.902.800-7.

Para las capturas y liberaciones, deberá contarse con la autorización expresa de la Corporación Nacional Forestal, en caso que éstas se realicen dentro de Areas Silvestres Protegidas del Estado, o de los respectivos propietarios, en caso de realizarse fuera de ellas.

TERCERO: En forma previa a la colecta, con al menos 5 días hábiles de anticipación, la Sra. Liliana Ortiz T. deberá informar por escrito, a la Dirección Regional SAG, Región Metropolitana, Fax (2-6817751) y al Subdepartamento de Vida Silvestre Fax (2-6764008), las fechas y sitios específicos de captura y liberación, además de un número de teléfono y/o dirección de correo electrónico de contacto.

CUARTO: Una vez concluidas las actividades de terreno, la Sra. Liliana Ortiz T. deberá enviar a la Dirección Regional SAG correspondiente y a la División de Protección de Recursos Naturales Renovables, un informe donde señale la cantidad de ejemplares capturados y liberados, así como

detalles acerca del esfuerzo de captura empleado. En caso de existir alguna publicación originada en la autorización otorgada, se deberá enviar copia de las mismas, debiendo hacer referencia en ellas del permiso expedido.

En el caso que la captura de los individuos no sea efectuada, el interesado deberá informar el hecho a la Dirección Regional SAG Región Metropolitana y a la División de Protección de Recursos Naturales Renovables.

QUINTO: Toda infracción a las disposiciones contenidas en la Ley de Caza y su Reglamento, y a la autorización que se le ha otorgado será sancionado por el Servicio Agrícola y Ganadero.

ANÓTESE Y COMUNÍQUESE


**HORACIO MERLET BADILLA**
JEFE DIVISIÓN DE PROTECCIÓN
RECURSOS NATURALES RENOVABLES

DISTRIBUCIÓN:

Sra. Liliana Ortiz Tolhuysen, Augusto Villanueva N° 390, depto. 308, Ñuñoa, Santiago.
Director Regional SAG Región Metropolitana
DIPROREN.
Of. de Partes.

Anexo N° 5: Aplicaciones de plaguicidas en fundo Santa María, Agroelite S.A.

Aplicaciones Huerto "El Milagro" MANZANAS Var. Red Chief - Granny S.

Fecha	Producto	Dosis/100 L	Objetivo
06 Nov. 2004	Cyren 48 EC	120 cc	Aplicación completa. Escama de San José.
18 Nov. 2004	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación bordes. Carpocapsa.
05 Dic. 2004	Carbaryl S 85	100 cc	Aplicación completa. Langostinos.
18 Dic. 2004	Cyren 48 EC	120 cc	Aplicación Completa. Chanco Blanco.
28 Dic. 2004	Cyren 48 EC	120 cc	Aplicación Completa. Chanco Blanco.
07 Ene. 2005	Diazol 40 WP	140 gr	Aplicación completa. Escama de San José.
15 Ene. 2005	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación bordes. Carpocapsa.
01 Feb. 2005	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación bordes. Carpocapsa.
25 Feb. 2005	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación Completa. Carpocapsa. (Precosecha)
10 Mar. 2005	Carbaryl S 85	100 gr	Aplicación bordes. Carpocapsa (solo Granny S.)
29 Mar. 2005	Carbaryl S 85	100 gr	Aplicación bordes. Carpocapsa (solo Granny S.)

Aplicaciones Huerto "4 espino chico" PERAS Var. Packham`s.

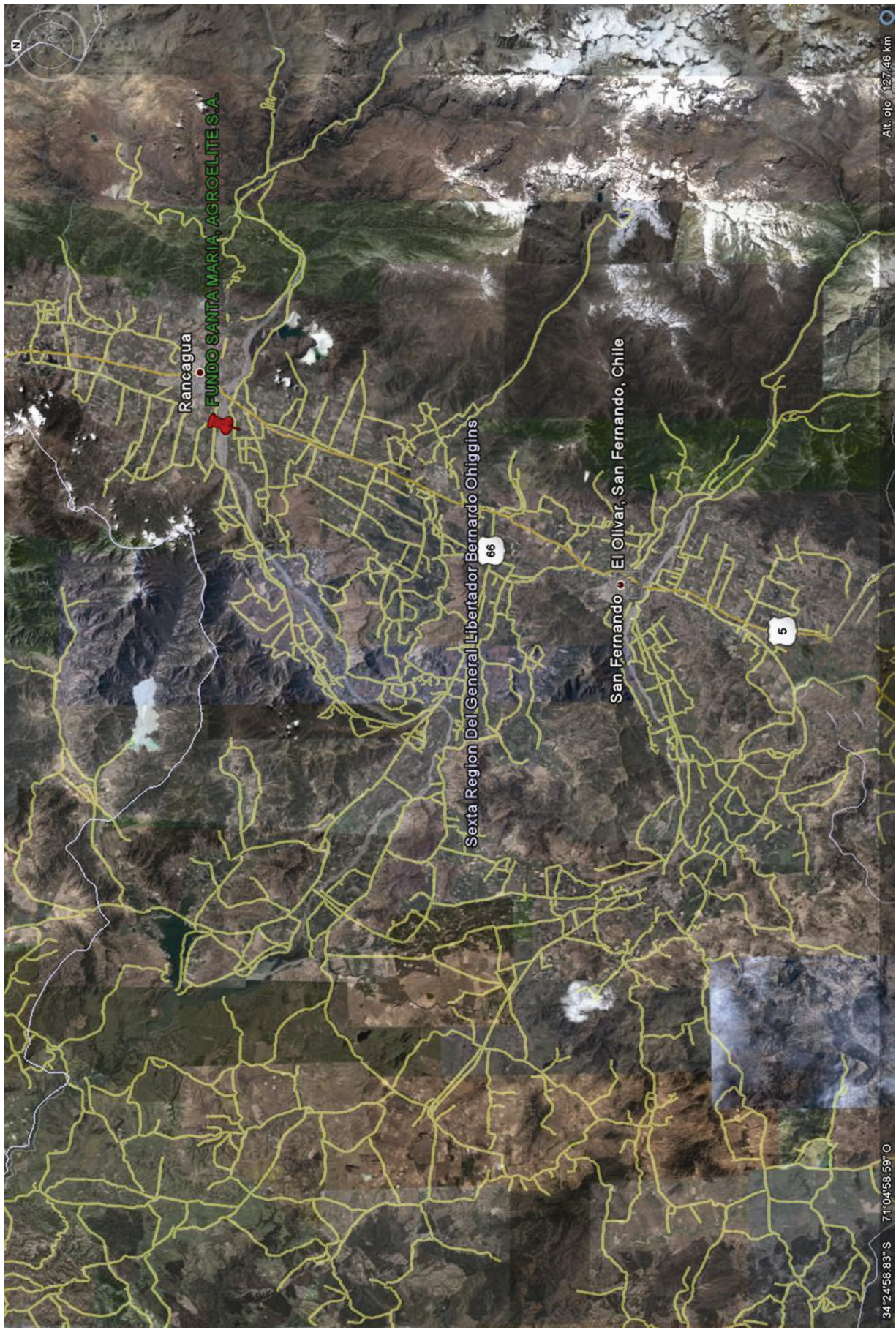
Fecha	Producto	Dosis/100 L	Objetivo
05 Nov. 2004	Supracid 40 WP	100 gr	Aplicación completa. Escama de San José.
13 Nov. 2004	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación bordes. Carpocapsa.
25 Nov. 2004	Cyren 48 EC	120 cc	Aplicación completa. Chanco Bco.
05 Dic. 2004	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación bordes. Carpocapsa.
28 Dic. 2004	Cyren 48 EC	120 cc	Aplicación Completa. Chanco Blanco.
07 Ene. 2005	Carbaryl S 85	100 gr	Aplicación Completa. Carpocapsa. (precosecha)
15 Ene. 2005	Diazol 40 WP	140 gr	Aplicación completa. Escama de San José.
30 Ene. 2005	Cotnión 35 SC	100 cc	Aplicación bordes. Carpocapsa.
18 Feb. 2005	Carbaryl S 85	100 gr	Aplicación bordes. Carpocapsa.
06 Mar. 2005	Carbaryl S 85	100 gr	Aplicación dirigida con Pitón solo a var. W. Nellis

Anexo N° 6: Lista de plaguicidas usados en fundo Santa María, Agroelite S.A., con autorización vigente, S.A.G.

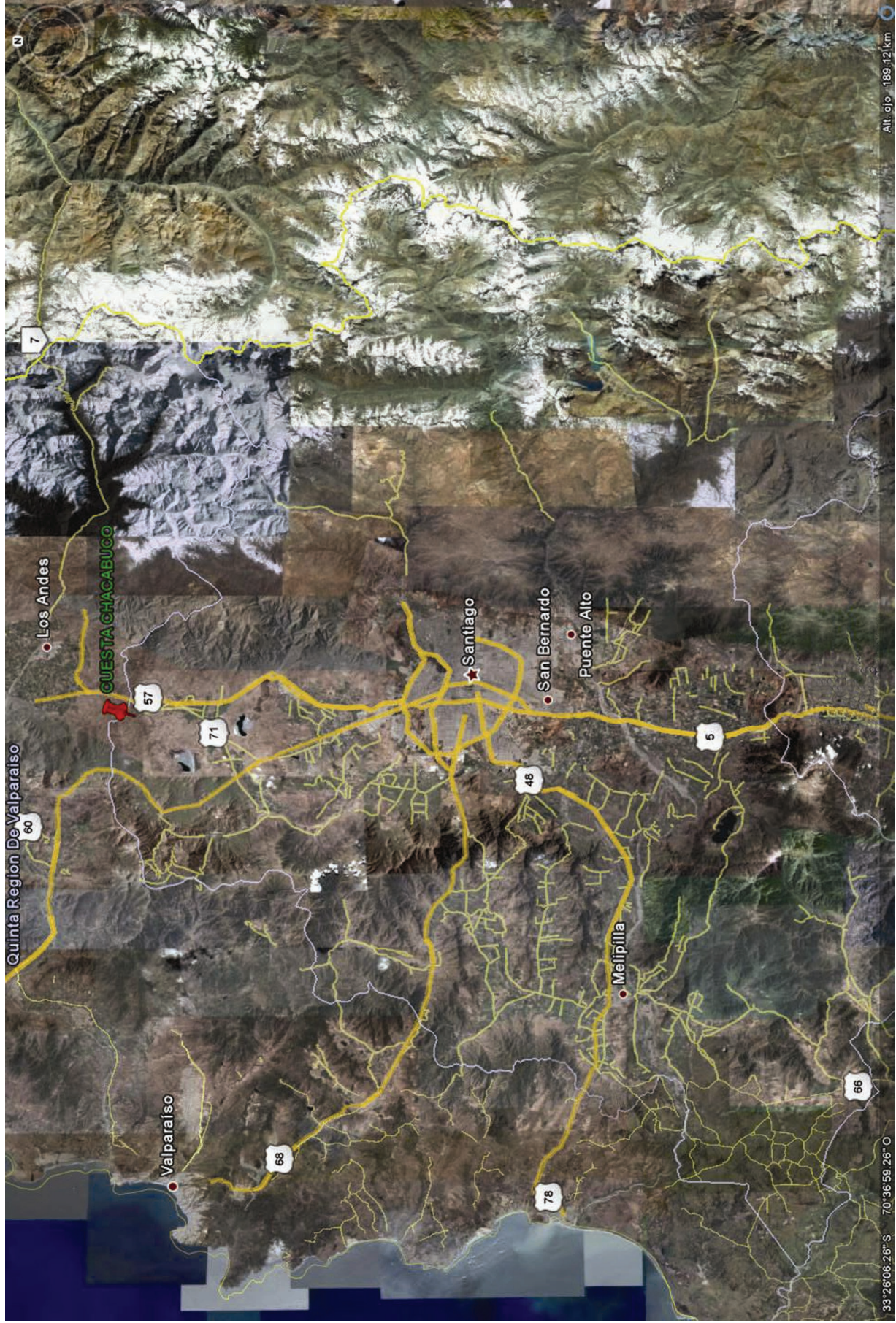
Nombre comercial	Ingrediente activo	Concentracion	Tipo formulacion	Grupo quimico	Toxicidad	Modo de acción	Periodo de reingreso	Autorización aplicación aérea	Cultivo para aplicación aérea	Base organica / feromona
Supracid 40 wp	Metidation	40% p/p	Polvo mojable	Organofosforado	II (amarillo)	Contacto e ingestion	24 horas	No	No	No
Diazol 40 wp	Diazinon	0,4	Polvo mojable	Organofosforado	II (amarillo)	Contacto, ingestion e inhalacion	12 horas despues de la aplicacion	No	No	No
Carbaryl s 85	Carbaryl	0.85	Polvo mojable	Carbamato	II (amarillo)	Contacto e ingestion	24 horas	No	No	No
Cyren 48 ec	Clorpirifos	48% p/v (480 g/l)	Concentrado emulsionable	Organofosforado	II (amarillo)	Contacto, ingestion e inhalación	24 horas después de la aplicación	No	No	No
Cotnion 35 wp	Azinphosmethyl	35% p/p	Polvo mojable	Organofosforado	IB (rojo)	Contacto e ingestion	24 horas despues de aplicacion	No	No	No
Cyren 15 g	Clorpirifos	15% p/p	Granulado	Organofosforado	IV (verde)	Contacto, ingestion e inhalación	Una vez incorporado el producto en el suelo	No	No	No
Diazol 50 ew	Diazinon	50% p/v	Emulsion aceite en agua	Organofosforado	II (amarillo)	Contacto, estomacal y respiratoria	12 horas personas, 21 dias animales de pastoreo	No	No	No
Cyren 50 wp	Clorpirifos	50% p/p	Polvo mojable	Organofosforado	II (amarillo)	Contacto, ingestion e inhalacion	24 horas	No	No	No

Ver lista completa de plaguicidas autorizados en: http://www.sag.gob.cl/portal/page?_pageid=206.63277&_dad=portal&_schema=PORTAL

Anexo N° 7: Ubicación Fundo Santa María en la Sexta Región del General libertador Bernardo O'Higgins.



Anexo N° 8: Ubicación cuesta Chacabuco en la Región Metropolitana.



Anexo N° 9: Fotografías del manejo de plaguicidas en el fundo Santa María, Agroelite S.A.

