Determination of the LC50 of chlorpyrifos in *Poecilia reticulata and a methodological proposal for its ecotoxicological assessment in the Pantanos de Villa coastal wetland

Perez Briones, Flor Rosana[1]; Alvarado Diaz, Edut[2]; Abarca Carrillo, Jazmín Nadir[3]; Ibáñez Culque, Mariela Yadhira[4]; Ballena Rondo, Deily Danitza[5]

[1,2,3,4,5] Universidad Privada del Norte, Lima, San Juan de Lurigancho, Perú [1]*flor.perez@upn.edu.pe* , [2]*N00377732@upn.pe* , [3]N00365707@upn.pe , [4]N00389752@upn.pe , [5]N00379240@upn.pe ,

Abstract - Chlorpyrifos is an organophosphate insecticide widely used in agriculture; its persistence and toxicity pose a threat to peri-urban aquatic ecosystems, such as the Pantanos de Villa coastal wetland (Chorrillos, Peru). This study experimentally evaluated the acute toxicity of chlorpyrifos on *Poecilia reticulata* (guppy) using a 96-hour static bioassay, exposing the organisms to concentrations of 25, 50, 75, and 100 µg/L, alongside a control group. Mortality was recorded at 24, 48, 72, and 96 hours and corrected using Abbott's formula due to a 20% baseline mortality observed in the control group. The median lethal concentration (96h-LC50) was estimated via Probit regression at approximately 7.70 µg/L, albeit with a wide 95% confidence interval (0.23–34.92 µg/L) attributable to response saturation in three of the four treatments. The results confirm the high sensitivity of *P. reticulata* to chlorpyrifos, support its suitability as a bioindicator organism, and provide empirical backing for the recent regulatory ban on the pesticide in Peru. Additionally, a complementary methodology is proposed to assess, in future studies, the influence of the wetland's environmental matrix on the compound's effective toxicity.

Keywords: chlorpyrifos; *Poecilia reticulata*; acute toxicity; LC50; Pantanos de Villa.

Determinación de la CL50 del clorpirifós en *Poecilia reticulata* y propuesta metodológica para su evaluación ecotoxicológica en el humedal costero Pantanos de Villa

Perez Briones, Flor Rosana[1]; Alvarado Diaz, Edut[2]; Abarca Carrillo, Jazmin Nadir[3]; Ibañez Culque, Mariela Yadhira[4]; Ballena Rondo, Deily Danitza[5]
[1,2,3,4,5] Universidad Privada del Norte, Lima, San Juan de Lurigancho, Peru [1]flor.perez@upn.edu.pe , [2]N00377732@upn.pe , [3]N00365707@upn.pe , [4]N00389752@upn.pe , [5]N00379240@upn.pe

Resumen - *El clorpirifós es un insecticida organofosforado de amplio uso agrícola cuya persistencia y toxicidad representan una amenaza para ecosistemas acuáticos periurbanos, como el humedal costero Pantanos de Villa (Chorrillos, Perú). Este estudio evaluó experimentalmente la toxicidad aguda del clorpirifós sobre Poecilia reticulata (guppy) mediante un bioensayo estático de 96 horas, exponiendo a los organismos a concentraciones de 25, 50, 75 y 100 µg/L, más un grupo control. La mortalidad se registró a las 24, 48, 72 y 96 horas, y se corrigió mediante la fórmula de Abbott debido a una mortalidad basal del 20 % observada en el control. La concentración letal media (CL50-96h) se estimó mediante regresión Probit en aproximadamente 7,70 µg/L, aunque con un intervalo de confianza del 95 % amplio (0,23-34,92 µg/L) atribuible a la saturación de la respuesta en tres de los cuatro tratamientos. Los resultados confirman la elevada sensibilidad de P. reticulata al clorpirifós, respaldan su idoneidad como organismo bioindicador y sustentan empíricamente la reciente prohibición normativa del plaguicida en el Perú. Se propone, además, una metodología complementaria para evaluar en estudios futuros la influencia de la matriz ambiental del humedal sobre la toxicidad efectiva del compuesto.*

Palabras clave: *clorpirifós; Poecilia reticulata; toxicidad aguda; CL50; Pantanos de Villa.*

I. INTRODUCCIÓN

El humedal costero Pantanos de Villa, ubicado en la franja central del litoral peruano, comprende aproximadamente 263,27 hectáreas y se alimenta principalmente de manantiales del acuífero de Lima, así como de la infiltración asociada a las descargas de una planta de tratamiento de aguas servidas domésticas. Este humedal constituye una representación clave de los ecosistemas de humedal del desierto del Pacífico y alberga comunidades vegetales, además de zonas de alimentación, reproducción y refugio para aves residentes y migratorias del continente americano. La dinámica vital de las especies que habitan Pantanos de Villa depende estrechamente de la disponibilidad y calidad del agua; por lo tanto, una reducción del recurso hídrico o un incremento de sus niveles de contaminación podría producir un desequilibrio ecosistémico con riesgo de colapso funcional [1].

Entre las amenazas antrópicas que comprometen la integridad de estos cuerpos de agua someros, destaca el uso extensivo de plaguicidas en áreas agrícolas adyacentes, debido a su elevado potencial de lixiviación y contaminación. Los insecticidas organofosforados, y en particular el clorpirifós (O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridina-2-ilo-fosforotioato), han sido ampliamente utilizados por su eficacia contra plagas; sin embargo, presentan características que generan preocupación ambiental, tales como su persistencia relativa en sedimentos, su potencial de bioacumulación y su toxicidad aguda y crónica para organismos acuáticos. Estos efectos toxicológicos incluyen alteraciones del comportamiento, estrés oxidativo y daño tisular, incluso a concentraciones subletales [2], [3].

A nivel normativo, la Resolución Directoral N.º 0032-2023-MIDAGRI-SENASA-MINSA estableció la prohibición del uso de clorpirifós en formulaciones agrícolas a partir del 1 de agosto de 2024, en atención a sus efectos adversos sobre la salud humana y el ambiente [4], [5].

La evaluación de los efectos del clorpirifós en peces tropicales resulta especialmente relevante, dado que estos organismos actúan como bioindicadores sensibles de la calidad acuática. Estudios previos han documentado respuestas adversas en diferentes especies: se ha reportado una alta sensibilidad de Poecilia reticulata (guppy) frente a insecticidas piretroides, con bajas concentraciones letales (LC50 en µg/L), lo que confirma la idoneidad de esta especie como modelo ecotoxicológico [6]. Investigaciones específicas con clorpirifós muestran resultados

igualmente preocupantes: se han observado correlaciones dosis-respuesta en alevinos de Piaractus brachypomus, con alteraciones comportamentales y elevada mortalidad incluso a dosis bajas [7]; asimismo, se han registrado en Oreochromis niloticus efectos subcrónicos sobre el crecimiento, los parámetros hematológicos y la histopatología a concentraciones entre 10 y 60 µg/L [8]. A su vez, estudios a nivel global resaltan la utilidad de biomarcadores enzimáticos —como AChE, CAT, SOD y GST— para detectar impactos tempranos del clorpirifós en peces y otros vertebrados acuáticos [3], [8].

Entre los efectos subletales, la interferencia en la reproducción y en el comportamiento de apareamiento reviste especial importancia ecológica, pues las alteraciones en el éxito reproductivo y en el tamaño de la camada pueden anticipar declives poblacionales aun cuando la mortalidad aguda sea baja. En Poecilia reticulata, el éxito de apareamiento y el tamaño de la camada (rango reportado aproximado de 12 a 46 crías por camada) constituyen parámetros sensibles que permiten evaluar impactos tanto a nivel individual como poblacional. Estos parámetros subletales no fueron abordados en el presente estudio, pero se identifican como una línea de investigación complementaria necesaria para una evaluación integral del riesgo ecotoxicológico en la especie.

Frente a este contexto, existe la necesidad de generar evidencia local y actualizada sobre los efectos del clorpirifós en especies bioindicadoras presentes en humedales periurbanos como Pantanos de Villa, con el fin de orientar medidas de conservación y manejo ambiental. En atención a esta brecha, el presente estudio se propone evaluar experimentalmente el impacto ecotoxicológico agudo del clorpirifós en *Poecilia reticulata* bajo condiciones controladas de laboratorio, como aporte científico a la conservación del humedal Pantanos de Villa durante 2025, determinando la concentración letal media (CL50) a 96 horas de exposición, y proponiendo una metodología complementaria para evaluar la influencia de la matriz ambiental del humedal en la toxicidad efectiva del plaguicida, como fundamento para futuras investigaciones sobre parámetros subletales y reproductivos en la especie.

II. METODOLOGÍA

A. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación corresponde a un estudio experimental de laboratorio, con un diseño estadístico de tipo experimental, orientado a evaluar la toxicidad aguda del plaguicida clorpirifós en organismos acuáticos. Para ello, se desarrolló un bioensayo estático de toxicidad aguda con una duración de 96 horas, bajo condiciones controladas, siguiendo una adaptación metodológica basada en los protocolos descritos por Salako et al. y Céspedes et al. [6], [7]. El diseño experimental incluyó tratamientos con diferentes concentraciones del plaguicida y un grupo control, evaluados en una sola réplica por tratamiento, lo que permitió estimar la concentración letal media (CL50) y evaluar las respuestas biológicas de Poecilia reticulata frente a la exposición.

B. ÁREA DE ESTUDIO

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio LMUL2 de la Universidad Privada del Norte, ubicado en el distrito de San Juan de Lurigancho, Lima, Perú. Los organismos de ensayo fueron adquiridos en el acuario comercial M&M, localizado en el distrito de Independencia, y trasladados posteriormente al laboratorio para su aclimatación y evaluación experimental.

C. ORGANISMO DE PRUEBA Y ACLIMATACIÓN

Se emplearon ejemplares juveniles de Poecilia reticulata (guppy), clínicamente sanos y de tamaño uniforme, seleccionados por su reconocida sensibilidad a contaminantes químicos y su amplio uso como organismo modelo en estudios ecotoxicológicos. Los peces fueron aclimatados durante un periodo de siete días en acuarios con agua declorada, bajo condiciones ambientales controladas: temperatura entre 27 y 28 °C, aireación constante y un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Durante esta etapa, los organismos fueron alimentados con artemia salina; el suministro de alimento se suspendió 48 horas antes del inicio del bioensayo, con el fin de evitar interferencias metabólicas durante la posterior exposición al plaguicida.

D. OBTENCIÓN DEL PLAGUICIDA Y PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES

El plaguicida empleado fue adquirido en su presentación comercial registrada a través de la tienda Dacorp, seleccionado por su uso frecuente en la agricultura y por contener clorpirifós como ingrediente activo, según la información declarada por el fabricante. Previo a su empleo, el producto fue almacenado en condiciones adecuadas de temperatura, evitando su exposición directa a la luz solar y a la humedad.

Para la preparación de las soluciones experimentales, se elaboró una solución madre de clorpirifós utilizando 20 mL del producto comercial, los cuales fueron transferidos a una fiola aforada de 250 mL y enrasados con agua destilada hasta obtener una mezcla homogénea. A partir de esta solución madre se prepararon diluciones seriadas, con las que se obtuvieron las concentraciones de trabajo de 25, 50, 75 y 100 µg/L, además de un grupo control sin plaguicida. Todas las diluciones se realizaron empleando material volumétrico calibrado, a fin de garantizar la precisión y reproducibilidad de las concentraciones ensayadas (Tabla 1).

TABLA 1. CONCENTRACIONES EXPERIMENTALES COLOCADAS A CADA TRATAMIENTO

Tratamiento	Concentración (µg/L)	Equivalente (mL/L)
Control	0	0
C1	25	10
C2	50	5
C3	75	3,3
C4	100	2,5

E. EXPOSICIÓN EXPERIMENTAL

El bioensayo se desarrolló bajo un sistema estático, sin renovación del medio, durante un periodo de 96 horas. Para cada tratamiento se empleó un único recipiente de ensayo con un volumen de 250 mL, en el que se colocaron cinco ejemplares de Poecilia reticulata. Cada concentración experimental, así como el grupo control, fueron evaluados sin réplicas independientes, lo que constituye una limitación del diseño experimental discutida más adelante. Las exposiciones se realizaron a una temperatura de 25 ± 1 °C, bajo un régimen de luz y oscuridad de 12:12 horas, sin suministro de alimento durante todo el periodo de ensayo.

F. REGISTRO DE MORTALIDAD Y CONTROL DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS

Las observaciones de comportamiento y mortalidad se registraron a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición. Los organismos fueron considerados muertos cuando no presentaron movimiento opercular ni respuesta ante estímulos táctiles. De manera simultánea, se monitorearon los parámetros fisicoquímicos del agua —temperatura, pH, oxígeno disuelto y conductividad—, con el propósito de asegurar condiciones ambientales constantes y adecuadas para la supervivencia de los peces.

G. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos de mortalidad registrados para cada concentración fueron corregidos en función del grupo control mediante la fórmula de Abbott, cuando correspondió, y expresados como porcentaje de mortalidad acumulada. A partir de estos valores se construyó la curva dosis-respuesta correspondiente al clorpirifós. La estimación de la concentración letal media (CL50) se realizó mediante análisis Probit, siguiendo metodologías estandarizadas para bioensayos de toxicidad acuática. El nivel de significancia estadística se estableció en $\alpha = 0{,}05$, y los resultados se presentaron en términos de media y desviación estándar, acompañados de representaciones gráficas que facilitaron la interpretación del efecto del plaguicida sobre Poecilia reticulata.

RESULTADOS

H. SUPERVIVENCIA Y MORTALIDAD REGISTRADA DURANTE EL BIOENSAYO. El seguimiento de la supervivencia de Poecilia reticulata a lo largo de las 96 horas de exposición se resume en la Tabla 2, mientras que el número de organismos muertos acumulados en cada intervalo de observación se presenta en la Tabla 3.

TABLA 2. GUPPYS SOBREVIVIENTES EXPUESTOS A CADA CONCENTRACIÓN POR UN TIEMPO DE 96 Hr

N° de guppys expuestos	Horas expuestas (h)	Control	C1	C2	C3	C4
5	24	5	5	5	5	4
5	48	5	4	3	1	2
5	72	4	4	3	0	0
5	96	4	1	0	0	0

TABLA 3. GUPPYS MUERTOS DURANTE EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN

N° de guppys expuestos	Horas expuestas (h)	Control	C1	C2	C3	C4
5	24	0	0*	0	0	1
5	48	0	1	2	4	3
5	72	1	1	2	5	5
5	96	1	4	5	5	5

(*) El valor de C1 a las 24 h se reporta como 0 muertos, en concordancia con el registro de 5 sobrevivientes de la Tabla 2 en ese mismo punto temporal.

Los resultados evidenciaron una mortalidad rápida y dependiente de la concentración: a las 48 h, el tratamiento C3 (75 µg/L) ya mostraba una reducción drástica de sobrevivientes (1 de 5), y a partir de las 72 h tanto C3 como C4 (100 µg/L) alcanzaron mortalidad total. El análisis temporal reveló además un patrón diferenciado según la dosis: las concentraciones más altas (C3 y C4) indujeron mortalidad de manera más temprana, mientras que en C1 (25 µg/L) el efecto letal se concentró en las últimas horas del ensayo (72–96 h), sugiriendo un mecanismo de acción acumulativo consistente con la inhibición progresiva de la acetilcolinesterasa característica de los insecticidas organofosforados [3], [8].

I. MORTALIDAD ACUMULADA POR TRATAMIENTO. Los porcentajes de mortalidad acumulada, calculados mediante la expresión Mortalidad (%) = (N° muertos / N° expuestos totales) × 100, se presentan en la Tabla 4.

TABLA 4. CÁLCULOS DE MORTALIDAD POR TRATAMIENTO

Tiempo (h)	Control	C1	C2	C3	C4
24	0 %	0 %*	0 %	0 %	20 %
48	0 %	20 %	40 %	80 %	60 %
72	20 %	20 %	40 %	100 %	100 %
96	20 %	80 %	100 %	100 %	100 %

Al término del bioensayo (96 h), la mortalidad acumulada fue de 20,0 % en el control, 80,0 % en C1 (25 µg/L), y 100,0 % en C2, C3 y C4 (50, 75 y 100 µg/L, respectivamente). La mortalidad basal del 20 % registrada en el control superó el umbral aceptable recomendado en protocolos estandarizados de bioensayos acuáticos (≤10 %), por lo que se aplicó la corrección de Abbott a los datos de los tratamientos antes de proceder con el análisis Probit.

*J. ESTIMACIÓN DE LA CL50 MEDIANTE REGRESIÓN PROBIT***.** Para la construcción de la curva dosis-respuesta, la concentración de cada tratamiento se transformó a su logaritmo en base 10 (expresado en µg/L) y la mortalidad corregida por Abbott se ajustó adicionalmente mediante la corrección de continuidad de Finney para los valores de 100 % (ajustados a 95 % dado n = 5 por tratamiento). Los valores empleados en la regresión se presentan en la Tabla 5.

TABLA 5. DATOS PARA LA CURVA DOSIS–RESPUESTA

Tratamiento	Concentración (µg/L)	Log_{10} (conc)	Muertos (96h)	Mortalidad observada (96h)	Mortalidad corregida (Abbott) 96h (%)
Control	**0**	—	**1**	**20,0 %**	— (referencia)
C1	25	1,39794	4	80,0 %	75,0 %
C2	50	1,69897	5	100,0 %	100,0 %
C3	75	1,87506	5	100,0 %	100,0 %
C4	100	2,00000	5	100,0 %	100,0 %

La mortalidad basal registrada en el grupo control (20,0 %) superó el umbral aceptable recomendado en protocolos estandarizados de bioensayos acuáticos (≤10 %), por lo que se aplicó la corrección de Abbott a los tratamientos antes del análisis Probit.

Fórmula de Abbott:
Mortalidad corregida (%) = [(Mortalidad observada − Mortalidad control) / (100 − Mortalidad control)] × 100

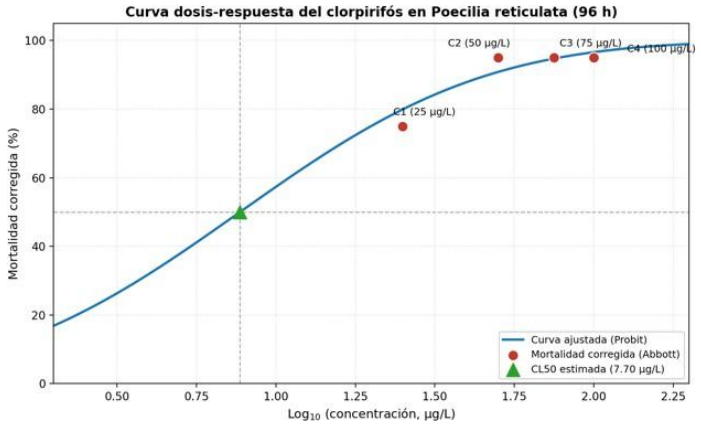


Fig. 1. Curva dosis-respuesta del clorpirifós sobre Poecilia reticulata (96 h).

La regresión lineal entre el probit de la mortalidad y el logaritmo de la concentración arrojó la ecuación Probit = 3,548 + 1,637 × log10(concentración), con un coeficiente de determinación $R^2 \approx 0{,}776$. A partir de esta ecuación, la concentración letal media (CL50-96h) se estimó en aproximadamente 7,70 µg/L, valor que se encuentra por debajo del rango de concentraciones efectivamente ensayado (25–100 µg/L), lo que indica que dicha estimación corresponde a una extrapolación de la curva ajustada y no a una interpolación directa entre los datos observados.

Aplicando el método de máxima verosimilitud de Finney (regresión probit ponderada iterativa con corrección de continuidad para las proporciones extremas, y estimación del intervalo mediante el teorema de Fieller), se obtuvo una CL50 de 7,70 µg/L con un intervalo de confianza del 95% amplio (aproximadamente 0,23–34,92 µg/L). Esta baja precisión se atribuye a que solo una de las cuatro concentraciones evaluadas (25 µg/L) generó una respuesta no saturada, mientras que las tres restantes (50, 75 y 100 µg/L) produjeron mortalidad cercana o igual al 100%, reduciendo la información disponible para estimar con exactitud la pendiente de la curva dosis-respuesta. Esta limitación es consistente con la recomendación previa de emplear, en estudios futuros, un rango de concentraciones más bajo que permita capturar adecuadamente la porción intermedia de la curva y, con ello, reducir la incertidumbre del intervalo de confianza de la CL50.

III. DISCUSIÓN

Los resultados evidencian una respuesta toxicológica marcadamente rápida y severa de Poecilia reticulata frente al clorpirifós, incluso en la concentración más baja evaluada (25 µg/L), donde la mortalidad alcanzó 80 % hacia las 96 horas. Este patrón es consistente con lo reportado en la literatura para especies de talla pequeña expuestas a insecticidas organofosforados, donde concentraciones del orden de decenas de µg/L pueden inducir

mortalidad significativa dentro de ventanas de exposición subagudas [3], [7].

Un hallazgo relevante es la saturación temprana de la respuesta: a partir de C2 (50 µg/L) la mortalidad alcanzó el 100 %, igual que en C3 y C4. Esto indica que el rango de concentraciones ensayado resultó insuficiente para capturar adecuadamente el tramo intermedio de la curva dosis-respuesta, siendo determinante para ello la elevada mortalidad basal en el control (20 %). En consecuencia, la CL50 estimada (≈ 7,70 µg/L) debe considerarse un valor preliminar, y se sugiere interpretar con cautela el valor de R^2 del ajuste, dado que se obtuvo por extrapolación fuera del rango experimental.

El comportamiento no estrictamente monotónico observado entre C3 y C4 a las 48 h —donde C3 mostró mayor mortalidad temprana que C4— es coherente con la variabilidad biológica esperable en bioensayos con tamaños de réplica reducidos (n = 5 por tratamiento), y no compromete la tendencia dosis-respuesta global, dado que ambos tratamientos convergieron en mortalidad total desde las 72 h.

Asimismo, la mortalidad de 20 % observada en el grupo control constituye una limitación metodológica que debe discutirse con cautela, ya que protocolos estandarizados de bioensayos de toxicidad acuática generalmente establecen un límite aceptable de mortalidad en el control no mayor a 10 % para validar el ensayo. Esta mortalidad basal podría atribuirse a factores de estrés asociados al manejo, densidad de organismos por recipiente, o variabilidad natural del lote de guppys empleado.

En conjunto, estos resultados confirman la alta toxicidad aguda del clorpirifós para Poecilia reticulata, coherente con su clasificación como especie bioindicadora sensible en estudios ecotoxicológicos [6], y evidencian la necesidad de ajustar el diseño experimental —empleando concentraciones inferiores a 25 µg/L— en estudios futuros para obtener una curva dosis-respuesta mejor definida y una estimación más precisa de la CL50 mediante análisis Probit. Estos hallazgos aportan evidencia científica local sobre el riesgo ecotoxicológico del clorpirifós para especies bioindicadoras de ecosistemas periurbanos como Pantanos de Villa, y respaldan, desde una perspectiva empírica, la pertinencia de la reciente prohibición normativa de este plaguicida en el país [4], [5].

Los resultados obtenidos en este bioensayo corresponden a condiciones controladas de laboratorio, con agua de dilución estándar que maximiza la biodisponibilidad del clorpirifós. Sin embargo, en el ecosistema real de Pantanos de Villa, factores como la materia orgánica disuelta, la dureza y la turbidez del agua podrían adsorber o secuestrar parte del plaguicida, reduciendo su fracción biodisponible y, por tanto, atenuando la mortalidad observada respecto a la estimada en este estudio. Se propone como línea futura de investigación replicar el bioensayo utilizando agua colectada directamente del humedal, fortificada con las mismas concentraciones nominales de clorpirifós, cuantificando además la concentración real disuelta del compuesto (mediante HPLC o GC-MS) antes y después de la exposición. Esto permitiría no solo comparar la CL50 obtenida en matriz natural frente a la de laboratorio, sino también identificar el mecanismo específico (adsorción a carbono orgánico, dureza, etc.) que modula la toxicidad efectiva del plaguicida bajo condiciones ambientales reales.

Comparación con otras especies de peces

La CL50 de 7,70 µg/L obtenida en este estudio para *Poecilia reticulata* se sitúa en un rango de sensibilidad intermedio-alto al compararla con lo reportado en la literatura para otras especies dulceacuícolas expuestas a clorpirifós. En tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), la CL50 a 96 h se ha reportado en 98,67 µg/L para juveniles y 154,01 µg/L para adultos (Oruç, 2010), valores entre 13 y 20 veces superiores al obtenido en el presente estudio, lo que sugiere una menor sensibilidad de la tilapia frente al guppy bajo las condiciones evaluadas. En el otro extremo, *Piaractus brachypomus* (cachama blanca) ha mostrado una sensibilidad extraordinariamente mayor, con una CL50 a 96 h de 0,11 µg/L (IC 95% = 0,10–0,12 µg/L), casi 70 veces menor que la reportada aquí para *P. reticulata*, posicionando a la cachama blanca como un bioindicador considerablemente más sensible al compuesto [7]. Adicionalmente, el mismo guppy ha sido reportado previamente con una CL50 a 96 h de 176 µg/L (0,176 ppm), valor notablemente más alto (~23 veces) que el estimado en el presente trabajo. Esta discrepancia dentro de la misma especie —más que reflejar una diferencia biológica real— probablemente responde a diferencias metodológicas entre estudios (calidad y dureza del agua de dilución, cepa o procedencia de los organismos, formulación técnica vs. comercial del clorpirifós) y, de manera importante, a la limitación estadística ya discutida en el presente estudio: el rango de concentraciones empleado (25–100 µg/L) generó saturación en la mayoría de los tratamientos, lo que pudo desplazar la CL50 estimada hacia valores más bajos que los reales [15]. En conjunto, estos hallazgos confirman la amplia variabilidad interespecífica en la sensibilidad al clorpirifós —consistente con lo señalado en la introducción respecto a la variación de toxicidad según especie— y resaltan la necesidad de interpretar el valor de CL50 obtenido en este estudio como una aproximación preliminar, sujeta a validación con un diseño experimental de mayor resolución en el rango intermedio de concentraciones.

IV. CONCLUSIONES

El clorpirifós demostró una elevada toxicidad aguda sobre Poecilia reticulata en condiciones de laboratorio, alcanzando una mortalidad del 100 % en tres de los cuatro tratamientos evaluados (50, 75 y 100 µg/L) dentro de las 96 horas de exposición, lo que confirma la alta sensibilidad de esta especie frente al plaguicida y respalda su idoneidad como organismo bioindicador en estudios

ecotoxicológicos. Incluso la concentración más baja evaluada (25 µg/L) produjo una mortalidad de 80 %, sustancialmente superior a la del grupo control (20 %), evidenciando que niveles relativamente bajos del insecticida son suficientes para generar un efecto letal severo sobre la especie. El análisis temporal de la mortalidad reveló un patrón dosis-dependiente en la velocidad de instauración del efecto tóxico: las concentraciones más altas indujeron mortalidad total de manera más temprana, mientras que la concentración más baja mostró un efecto acumulativo y tardío, concentrado entre las 72 y 96 horas. La estimación preliminar de la CL50-96h mediante regresión Probit fue de aproximadamente 7,70 µg/L, valor por debajo del rango de concentraciones efectivamente ensayado, lo que indica que este valor debe interpretarse como una aproximación preliminar y no como una estimación estadísticamente definitiva.

Se reconoce que la mortalidad basal del 20% registrada en el grupo control excede el umbral aceptable de ≤10% recomendado por protocolos estandarizados de bioensayos acuáticos (p. ej. OECD 203, EPA/600), lo cual constituye una limitación del presente estudio. Aunque se aplicó la corrección de Abbott para ajustar la mortalidad de los tratamientos, esta corrección no elimina la incertidumbre asociada a un control fuera de rango, y los resultados deben interpretarse con esta salvedad. Se identificó como posible causa la discrepancia térmica entre la fase de aclimatación (27–28 °C) y la fase de exposición (25±1 °C), diferencia que pudo generar estrés fisiológico adicional en los organismos, independiente del efecto del clorpirifós. Para estudios futuros, se recomendaría: mantener temperatura constante entre ambas fases, extender la aclimatación a un mínimo de 7 días y reforzar el control de calidad del agua (OD, amonio, pH). Se reconoce que el rango de concentraciones empleado (25–100 µg/L) resultó demasiado alto para capturar la porción intermedia de la curva dosis-respuesta, generando saturación (100% de mortalidad) en tres de los cuatro tratamientos y limitando la precisión de la CL50 estimada. Para futuros estudios se recomienda emplear concentraciones más bajas (p. ej. 1, 5, 10, 15 y 20 µg/L), que permitan ubicar la CL50 dentro del rango intermedio de respuesta y mejorar el ajuste del modelo probit.

Los resultados obtenidos aportan evidencia científica local sobre el riesgo ecotoxicológico del clorpirifós para especies bioindicadoras presentes en ecosistemas periurbanos como el humedal Pantanos de Villa, y respaldan la pertinencia de la reciente prohibición normativa de este plaguicida en el Perú. En conjunto, el estudio confirma que Poecilia reticulata constituye un modelo experimental sensible y adecuado para la evaluación de la toxicidad aguda de insecticidas organofosforados, y sienta una línea base para futuras investigaciones orientadas a refinar la estimación de la CL50 y a explorar los efectos subletales del clorpirifós sobre parámetros reproductivos y poblacionales de la especie.

V. RECOMENDACIONES

Se recomienda repetir el bioensayo incorporando concentraciones inferiores a 25 µg/L, con el fin de capturar con mayor precisión el tramo intermedio de la curva dosis-respuesta y obtener una estimación de la CL50 estadísticamente más robusta. Es necesario mejorar el control de las condiciones de aclimatación y manejo de los organismos, dado que la mortalidad registrada en el grupo control superó el límite aceptable recomendado por protocolos estandarizados. Se recomienda aumentar el número de réplicas y/o organismos por tratamiento, a fin de reducir la variabilidad biológica observada entre tratamientos adyacentes y fortalecer la validez estadística del análisis Probit.

Es recomendable complementar el bioensayo de toxicidad aguda con evaluaciones de efectos subletales sobre parámetros reproductivos, en línea con la metodología complementaria propuesta en la Introducción del presente estudio. Se recomienda incorporar el monitoreo de biomarcadores enzimáticos (AChE, CAT, SOD, GST) en tejidos de los organismos expuestos, con el fin de correlacionar la respuesta de mortalidad con mecanismos toxicológicos subyacentes.

Se sugiere extender esta línea de investigación hacia condiciones más representativas del campo, evaluando otros factores ambientales propios del humedal que podrían modificar la biodisponibilidad y toxicidad real del clorpirifós. Finalmente, se recomienda utilizar los hallazgos de este estudio como línea base para el diseño de programas de monitoreo ecotoxicológico continuo en el humedal Pantanos de Villa.

RECONOCIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Privada del Norte por facilitar el acceso al laboratorio y operaciones unitarias necesarios para el desarrollo de la fase experimental de esta investigación. Asimismo, se reconoce el apoyo del personal técnico y docente que contribuyó al aseguramiento de la calidad en las mediciones de pH. De manera especial, los autores expresan su agradecimiento al Dr. Oscar R. Huároc Bravo, por su participación como revisor del presente trabajo de investigación y por sus valiosas observaciones, sugerencias y aportes académicos, que contribuyeron al fortalecimiento de la calidad y rigurosidad del estudio.

REFERENCIAS

[1] J. Juárez and L. Aguirre-Soto, "Evaluación de la calidad del agua en el humedal costero Pantanos de Villa, Chorrillos, Perú," Tecnia, vol. 34, no. 1, pp. 11–25,
2024, doi: 10.21754/tecnia.v34i1.2158.

[2] M. Gutiérrez, K. Gallardo, and V. García, "Influencia de la degradación del clorpirifós en la detección analítica utilizando biosensores: revisión del estado actual y aspectos futuros," Entre Ciencia e Ingeniería, vol. 15, no. 30, pp. 9–21, 2021, doi: 10.31908/19098367.2102.

[3] X. Huang, H. Cui, and W. Duan, "Ecotoxicity of chlorpyrifos to aquatic organisms: A review," Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 200, p. 110731, 2020, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110731.

[4] Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI) and Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), "Resolución Directoral N.° 0032-2023-MIDAGRI-SENASA-DIAIA," Diario Oficial El Peruano, Perú, 2023. [En línea]. Disponible en: https://busquedas.elperuano.pe/dispositivo/NL/2195231-1

[5] E. Wołejko et al., "Chlorpyrifos occurrence and toxicological risk assessment: A review," International Journal of Environmental Research and Public Health, vol. 19, no. 19, p. 12209, 2022, doi: 10.3390/ijerph191912209.

[6] A. Salako, N. Amaeze, H. Shobajo, and F. Osuala, "Comparative acute toxicity of three pyrethroids on guppy fish (Poecilia reticulata)," Scientific African, vol. 9, e00504, 2020, doi: 10.1016/j.sciaf.2020.e00504.

[7] G. K. Holguín-Céspedes, L. M. Millán-Ocampo, E. J. Mahecha-Méndez, Á. E. Céspedes-Rubio, and I. S. Rondón-Barragán, "Evaluación de la toxicidad del clorpirifós en alevinos de cachama blanca (Piaractus brachypomus)," Revista Internacional de Contaminación Ambiental, vol. 35, no. 4, pp. 815–829, 2019, doi: 10.20937/rica.2019.35.04.04.

[8] M. Hossain, L. Sutradhar, T. Sarker, S. Saha, and M. Iqbal, "Toxic effects of chlorpyrifos on the growth, hematology, and organ histopathology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus)," Saudi Journal of Biological Sciences, vol. 29, no. 7, p. 103316, 2022, doi: 10.1016/j.sjbs.2022.103316.

[9] L.-C. Cojocariu, C. T. Cîrmaciu (Florea), R. G. Bobeică, I. Ungureanu, D. C. Negură, H. I. Stan, B. Păsărin, y R.-M. Radu-Rusu, "Guppy Fish (Poecilia reticulata) and its Use in Scientific Research – A Short Narrative Review," *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, vol. 59, n.º 1, pp. 505–514, 2026. [En línea]. Disponible en: https://www.spasb.ro/index.php/public_html/article/view/2524

[10] FARMEX S.A., Clorfos 48 CE® (clorpirifós). Insecticida agrícola, Ficha técnica, versión 3, 2020. [En línea]. Disponible en: https://www.farmex.com.pe/uploads/productos/ft/ft-correcciones/clorfos-48-ce-ft-v3.pdf

[11] F. Huaranga Moreno, F. Huaranga Arévalo, O. Vela Horna, y O. Vela Ramírez, "Determinación de la CL50-96h del hierro mediante pruebas toxicológicas sobre el 'guppy' *Poecilia reticulata* (Peters, 1859)," *Arnaldoa*, vol. 30, n.º 1, pp. 35–50, 2023. doi: 10.22497/arnaldoa.301.30103. [En línea]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992023000100035

[12] Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP), *Plan Maestro del Refugio de Vida Silvestre Los Pantanos de Villa 2016–2020*, Resolución Presidencial N.º 169-2016-SERNANP, Lima, 5 de julio de 2016.

[13] S. Uniyal and R. Sharma, "Technological advancement in electrochemical biosensor-based detection of organophosphate pesticide chlorpyrifos," Biosensors and Bioelectronics, vol. 116, pp. 37–50, 2018, doi: 10.1016/j.bios.2018.05.039.

[14] M. VanDer Zee et al., "Rapid genomic convergent evolution in experimental populations of Trinidadian guppies (Poecilia reticulata)," Evolution Letters, vol. 6, no. 2, pp. 149–161, 2022, doi: 10.1002/evl3.272.

[15] N. Deb and S. Das, "Chlorpyrifos toxicity in fish: A review," *Current World Environment*, vol. 8, no. 1, pp. 77-84, 2013, doi: 10.12944/CWE.8.1.17. [En línea]. Disponible en: http://www.cwejournal.org/?p=3107