

**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN**



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

**ENSAYOS DE TOXICIDAD CON FRAGANCIAS, INSECTICIDAS Y PRODUCTOS DE
LIMPIEZA SOBRE *Porcellio laevis***

RESPONSABLE

Dr. José Alberto Iannacone Oliver

COLABORADOR

Srta. Rosario Oporto Llerena

RESUMEN

Los productos farmacéuticos se están utilizando cada vez más en medicina humana y veterinaria. *Porcellio laevis* (Latreille, 1804) conocido como “chanchito de la humedad” o “cochinilla de la humedad” tiene importancia ecológica debido a que ayuda a recircular los nutrimentos y mantener los flujos de energía en el suelo. A la fecha, no se tiene una información actualizada que evalúe el efecto tóxico de fragancias (aceite de cananga, aceite esencial de limón, eucaliptol, geraniol, aceite de lavanda, esencia de sándalo, aceite de rosa y aceite de loto sagrado), insecticidas (deltametrina, ivermectina, permetrina, cipermetrina, azadiractina) y productos de limpieza (verde de malaquita, azufre, aceite de pino, sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS), fluconazol y fluoroquinolona-ciprofloxacina) sobre organismos de suelo en el Perú. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto tóxico letal y subletal de fragancias, insecticidas y productos de limpieza sobre *P. laevis*. Se realizaron dos tipos de pruebas con *P. laevis*: (1) toxicidad aguda a 24 h de exposición, las que se iniciaron con juveniles de segundo estadio, de 3-4 mm de longitud total y menos de siete días de nacidos, y (2) toxicidad subletal de comportamiento a 24 h de exposición, los que se realizaron con especímenes de *P. laevis* entre 12-14 mm de longitud. Los resultados evidencian una secuencia en orden decreciente de toxicidad letal y subletal de los insecticidas > productos de limpieza > fragancias. Entre las fragancias, el agua de cananga, el aceite esencial de limón, el aceite esencial de eucalipto, el aceite esencial de geranio y el aceite esencial de loto sagrado mostraron las dosis más bajas con efectos subletales repelentes. Entre los productos de limpieza el verde de malaquita mostró los mayores efectos letales y subletales repelentes sobre *P. laevis*. Entre los insecticidas, la deltametrina mostró los mayores efectos letales y subletales repelentes sobre *P. laevis*. Se concluye que *P. laevis* es un bioindicador de toxicidad para la evaluación de fragancias, insecticidas y productos de limpieza en el Perú.

PALABRAS CLAVES: fragancias, insecticidas, *Porcellio laevis*, productos de limpieza, toxicidad letal, toxicidad subletal.

ABSTRACT

Pharmaceutical products are increasingly used in human and veterinary medicine. *Porcellio laevis* (Latreille, 1804) known as "piggy moisture" or "Sow" is ecologically important because they help to recycle nutrients and maintain energy flows on the ground. To date, there is no updated information to assess the toxic effect of fragrance (oil cananga, lemon essential oil, eucalyptol, geraniol oil, lavender oil, sandalwood oil, rose oil and sacred lotus oil), insecticides (deltamethrin, ivermectin, permethrin, cypermethrin, azadirachtin) and cleaning products (malachite green, sulfur, pine oil, Linear alkylbenzene sulfonate (LAS), fluoroquinolone-ciprofloxacin and fluconazole) on soil organisms in Peru. The aim of this study was to assess the lethal and sublethal toxic effect of fragrances, insecticides and cleaning products on *P. laevis*. Two types of tests were performed with *P. laevis*: (1) acute toxicity at 24 h of exposure, which began with second-stage juveniles, 3-4 mm in total length and less than seven days old, and (2) behaviour sublethal toxicity 24 h of exposure, which were conducted with specimens of *P. laevis* 12-14 mm in length. The results show a sequence in descending order of lethal and sublethal toxicity of insecticides> cleaning products> fragrances. Among the fragrances, cananga water, lemon essential oil, eucalyptus essential oil, geranium essential oil and sacred lotus essential oil showed the lowest doses with repellent sublethal effects. Among cleaning products malachite green showed the highest lethal and repellent effects on *P. laevis*. Among insecticides, deltamethrin showed the highest lethal and sublethal effects repellent on *P. laevis*. It is concluded that *P. laevis* is a biomarker for evaluating toxicity of fragrances, insecticides and cleaning products in Peru.

KEYWORDS: fragrances, insecticides, *Porcellio laevis*, cleaning products, lethal toxicity, sublethal toxicity.

INTRODUCCIÓN

Porcellio laevis (Latreille, 1804) (Artrópoda: Porcellionidae) es conocido en el Perú como “chanchito de la humedad” o “cochinilla de la humedad”. Su hábitat generalmente es terrestre y en zonas oscuras. Su alimentación es detritívora y consume microalgas, musgos, hongos, corteza de árboles, cáscaras de material vegetal y animales en descomposición (Drobne 1997).

Los isópodos terrestres tienen importancia ecológica al recircular los nutrientes y mantener los flujos de energía en el suelo (Iannacone *et al.*, 2001). Poseen la habilidad de acumular grandes cantidades de sustancias nocivas como los metales pesados en sus tejidos, mecanismo por el cual pueden resistir o reducir los efectos de las altas concentraciones de algunas sustancias, basándose en la capacidad de compartimentalización intracelular. Es por estas cualidades que *P. laevis* es considerado como un bioindicador para investigaciones relacionadas con pruebas ecotoxicológicas (Drobne *et al.* 2008, Da Silva Jr *et al.* 2013).

Se ha utilizado a *P. laevis* en investigaciones de ensayos toxicológicos puesto que se ha encontrado en ambientes contaminados por metales, acumulando grandes cantidades de metales y tóxicos químicos lipofílicos en sus tejidos (Prosi & Dallinger 1988).

Los productos farmacéuticos se utilizan cada vez más en medicina humana y veterinaria, su consumo es considerable en los últimos tiempos; así cerca de 3000 diferentes sustancias son usados en medicina humana en la Unión Europea (Fent *et al.* 2006, Pérez *et al.* 2008). Los productos farmacéuticos humanos comúnmente utilizados son los anti-inflamatorios no esteroidales, analgésicos, antifúngicos, antibióticos, reguladores de lípidos, beta bloqueadores, esteroides y hormonas relacionadas (Halling-Sorensen *et al.* 1998, Charrirel 2003, Fent *et al.* 2006, Daughton & Ternes 1999, Thomas & Barber 2011). Entre estos, los antimicóticos o antifúngicos incluyen una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción (Jurado 1989). La clasificación se realiza según criterios convencionales que atienden a su estructura en: polienos, azoles, alilaminas, entre otros; de acuerdo con su origen en sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química; de acuerdo con su espectro de acción en: amplio o restringido y de acuerdo con el sitio de acción (Gregory 2005).

Muchos de estos productos farmacéuticos aplicados con propósitos medicinales o como aditivos pueden llegar finalmente a los ecosistemas por rutas directas o indirectas

(Iannacone & Alvarino 2007). La evaluación de los productos farmacéuticos en el ambiente es un área de investigación emergente a nivel global (Halling-Sorensen *et al.* 1998, Daughton & Ternes 1999, Jjemba 2006). Por medios de los bioensayos de ecotoxicidad son establecidos los criterios de calidad para la protección de la vida terrestre, los que posteriormente, se usan para determinar los estándares de calidad ambiental para cada agente químico individual (Iannacone *et al.* 2000, Iannacone & Alvarino 2002, Burton & Nordstrom 2004, Iwai & Noller 2008, Niemeyer *et al.* 2009, Gaw 2009).

A la fecha, no se tiene una base de datos actualizada que evalúe el efecto letal de fragancias (agua de cananga, aceite de cananga, aceite de esencial de limón, eucaliptol, geraniol, aceite de lavanda, esencia de sándalo, aceite de rosa mosqueta y aceite de loto sagrado), insecticidas (cipermetrina, deltametrina, permetrina, ivermectina y azadiractina) y productos de limpieza (verde de malaquita, azufre, aceite de pino, Sulfonato de Alquibenceno lineal (LAS), fluconazol y fluoroquinolona y ciprofloxacina) en el Perú, para su empleo en toxicología, farmacología, medicina y biología. Mediante los resultados obtenidos se realizará una evaluación de riesgos ambientales de las fragancias, insecticidas y productos de limpieza sobre *P. laevis* en el ambiente terrestre.

Dentro de los principales factores que impactan la biodiversidad en todas sus escalas genética, específica y ecosistema tenemos la degradación ambiental por sustancias químicas, y entre ellas, fragancias, insecticidas y productos de limpieza, a pesar de tener menos impactos negativos, pueden llegar a los ecosistemas terrestres. Generalmente es importante establecer cuál es el químico que contribuye a la toxicidad de una muestra ambiental en especies del ecosistema terrestre. Para predecir el impacto de fragancias, insecticidas y productos de limpieza sobre *P. laevis* modelo representante del ambiente terrestre es necesario evaluar su efecto sobre este organismo invertebrado de referencia estandarizado.

A la fecha en Perú no se tienen resultados ecotoxicológicos letales y subletales con fragancias, insecticidas y productos de limpieza publicados en revistas internacionales sobre *P. laevis*.

Importancia económica-social: Al ser *P. laevis* "Chanchito de suelo" el artrópodo más empleado para evaluar la calidad del suelo, la obtención de una base de datos ecotoxicológica de sustancias químicas nos permite seleccionar aquellos de menor riesgo al ambiente. De igual forma este proyecto socialmente permite realizar investigación formativa de pregrado a semilleros de investigación en pre-grado.

Importancia ambiental: En base a los resultados obtenidos con ensayos de toxicidad se evalúan los riesgos ecológicos de las sustancias químicas en el suelo y se proponen medidas para disminuir el riesgo ecotoxicológico.

Importancia científica-tecnológica: Este biosensor y bioindicador ecológico terrestre puede ser empleado como un “kit” referencial patentado en INDECOPI para determinar la toxicidad de cualquier sustancia química, el cual se ofrece como un “servicio” en consultorías ambientales que evalúa los efectos tóxicos de sustancias químicas en el suelo.

MARCO TEÓRICO

Definición de Terminología Básica (Lagarto & Vega 1990, Calow 1993, APHA 1995).

* Pruebas de toxicidad o Bioensayos: La determinación del efecto de una sustancia en un grupo de organismos seleccionados bajo condiciones definidas. Una prueba de toxicidad usualmente mide o 1) la proporción de organismos o 2) el grado de efecto mostrado (graduado o cuantitativo) después de la exposición a un rango de concentración de estresores o a una mezcla de estresores.

* Bioplaguicida: Los bioplaguicidas son productos que se extraen de materias naturales como plantas, minerales o bacterias y su utilización en lugar de los plaguicidas químicos ayuda a proteger el medio ambiente.

* Cociente de peligro (CP): La proporción entre la concentración o dosis de exposición y la concentración o dosis de efecto, donde ambos son expresados en las mismas unidades. Incorrectamente referido como cociente de riesgo (CR).

* Concentración letal media (CL_{50}) o Dosis letal media (DL_{50}): La concentración o dosis de una sustancia en el agua u otra matriz ambiental que es estimada a ser letal al 50% de los organismos.

* Ecotoxicología: La propiedad de una sustancia de producir un efecto adverso en un ecosistema o más de uno de sus componentes.

* Efecto adverso: Cambios en la morfología, fisiología, crecimiento, desarrollo, reproducción, ciclo de vida de un organismo, sistema, o subpoblación que resulte en deterioro de la capacidad de compensación para un estrés adicional, o un incremento en la susceptibilidad a otras influencias.

* Evaluación de punto final: Una expresión explícita de valor ambiental a ser protegida. Una evaluación de punto final tiene que incluir una entidad y una propiedad específica de esa entidad.

* Evaluación de riesgos Ambientales (ERA): Un proceso que evalúa la probabilidad que un efecto adverso ecológico pueda ocurrir o que este ocurriendo como resultado de la exposición de uno o más estresores.

* Factor de incertidumbre (FI): Un factor aplicado a una exposición o a una concentración de efecto u cociente de peligro que corrige las fuentes no identificadas de incertidumbre.

* Toxicidad aguda: Efecto perjudicial de una sustancia que ocurre después de una exposición breve, usualmente 48 a 96 h.

* Toxicidad crónica: Efecto perjudicial de una sustancia o de una mezcla de sustancias que ocurren después de una exposición extendida.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

General

- Realizar ensayos de toxicidad letal y subletal con fragancias, insecticidas y productos de limpieza sobre *P. laevis*.

Específicos

- Determinar el efecto tóxico subletal de fragancias (agua de cananga, aceite de cananga, aceite de esencial de limón, eucaliptol, geraniol, aceite de lavanda, esencia de sándalo, aceite de rosa mosqueta y aceite de loto sagrado) sobre *P. laevis*.
- Analizar el efecto tóxico letal y subletal de los insecticidas (deltametrina, ivermectina, permetrina, cipermetrina, azadiractina) sobre *P. laevis*.
- Determinar el efecto tóxico letal y subletal de los productos de limpieza (verde de malaquita, azufre, aceite de pino, Sulfonato de Alquilbenceno lineal (LAS), fluconazol y fluoroquinolona y ciprofloxacina) sobre *P. laevis*.

HIPÓTESIS

- Ho1: No existe efecto tóxico subletal de las fragancias (agua de cananga, aceite de cananga, aceite de esencial de limón, eucaliptol, geraniol, aceite de lavanda, esencia de sándalo, aceite de rosa mosqueta y aceite de loto sagrado) sobre *P. laevis*.
- Ha1: Existe efecto tóxico subletal de las fragancias (agua de cananga, aceite de cananga, aceite de esencial de limón, eucaliptol, geraniol, aceite de lavanda, esencia de sándalo, aceite de rosa mosqueta y aceite de loto sagrado) sobre *P. laevis*.
- Ho2: No existe efecto tóxico letal y subletal de los insecticidas (cipermetrina, deltametrina, permetrina, ivermectina, azadiractina) sobre *P. laevis*.

- Ha2: Existe efecto tóxico letal y subletal de los insecticidas (cipermetrina, deltametrina, permetrina, ivermectina, azadiractina) sobre *P. laevis*.
- Ho3: No existe efecto tóxico letal y subletal de los productos de limpieza (verde de malaquita, azufre, aceite de pino, Sulfonato de Alquilbenceno lineal (LAS), fluconazol y fluoroquinolona y ciprofloxacina) sobre *P. laevis*.
- Ha3: Existe efecto tóxico letal y subletal de los productos de limpieza (verde de malaquita, azufre, aceite de pino, Sulfonato de Alquilbenceno lineal (LAS), fluconazol y fluoroquinolona y ciprofloxacina) sobre *P. laevis*.

VARIABLES DE ESTUDIO

Debido a que es una investigación causal se tienen variables dependientes e independientes.

Variables dependientes: Letal: Mortalidad de *P. laevis*; Subletal: elección/ no elección de *P. laevis*.

Variable Independientes: Dosis de fragancias, insecticidas y productos de limpieza.

MÉTODO

Los bioensayos toxicológicos con fragancias (agua de cananga, aceite de cananga, aceite de esencial de limón, eucaliptol, geraniol, aceite de lavanda, esencia de sándalo, aceite de rosa mosqueta y aceite de loto sagrado), insecticidas (cipermetrina, deltametrina, permetrina, ivermectina, azadiractina), y productos de limpieza (verde de malaquita, azufre, aceite de pino, Sulfonato de Alquilbenceno lineal (LAS), fluconazol y fluoroquinolona-ciprofloxacina) sobre *P. laevis*, se realizaron en el Laboratorio de Parasitología (LA-79), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Ricardo Palma, Distrito de Santiago de Surco, Lima, Perú, en el 2016.

Diseño experimental

Las pruebas de toxicidad aguda sobre *P. laevis* emplearon para fragancias, insecticidas y productos de limpieza cinco concentraciones más el control: con cuatro repeticiones, en un diseño en bloque completamente aleatorio (DBCA) de 6 (dosis) x 19 (sustancias químicas) x 4 (repeticiones). Los criterios de selección de las dosis empleadas siguieron a Iannacone & Lamas (2003b).

Material químico:

Fragancias, insecticidas y productos de limpieza

Productos químicos:

Fragancias: (1) aceite de esencia de cananga, (2) aceite esencial de limón, (3) eucaliptol, (4) geraniol, (5) aceite de lavanda, (6) esencia de sándalo, (7) aceite de rosa, y (8) aceite de loto sagrado.

Insecticidas: (9) cipermetrina, (10) deltametrina, (11) permetrina, (12) ivermectina, y (13) azadiractina.

Productos de limpieza: (14) verde de malaquita, (15) azufre, (16) aceite de pino, (17) LAS, (18) fluconazol y (19) fluoroquinolona-ciprofloxacino.

Se utilizaron de cinco a seis concentraciones de los fragancias, insecticidas y productos de limpieza más un control con cuatro repeticiones por concentración. Las diluciones de las fragancias, insecticidas y de los productos de limpieza calculados usaron mayormente un factor de 0,5. El agua de dilución empleada para todos los casos fue agua embotellada.

Material biológico:

Se colectaron 1000 individuos adultos de *P. laevis*, de diversos parques del departamento de Lima, Perú. La especie se identificó a nivel del estado adulto, empleando las características morfológicas indicadas por Leistikow & Wolfgang (1999). Los especímenes fueron trasladados en recipientes de plástico de 300 mL al Laboratorio de Parasitología (LA 79) de la Universidad Ricardo Palma.

Cultivos parciales: Los adultos de *P. laevis* fueron introducidos en un terrario de 51 cm de largo x 23 cm de ancho x 24 cm de alto. Se empleó tierra húmeda vegetal para el cultivo, la cual provino de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Esta tierra fue cernida con un tamiz, para luego ser colocada hasta una altura de 7 cm en el terrario; posteriormente éste se forró con cartulina negra y se regó la tierra cada cuatro días durante seis semanas, con agua embotellada (pH 6,7), empleando un aspersor. Los individuos fueron alimentados con cáscaras de papa *ad libitum*. Para la obtención de los juveniles, se aislaron a 25 hembras en cada uno de los recipientes de plástico transparente de 250 mL, y los juveniles recién eclosionados de los marsupios de las hembras oviplenas no se aislaron sino hasta el momento de la experimentación.

Ensayos de ecotoxicidad aguda con P. laevis: Estos ensayos de letalidad se iniciaron con juveniles de segundo estadio, de 3-4 mm de longitud total y menos de siete días de nacidos (Iannacone *et al*, 2001). Estos ejemplares se escogieron al azar de los envases en las que fueron aisladas las hembras oviplenas. Diez juveniles de segundo estadio se distribuyeron al azar en cada uno de los envases de las cuatro repeticiones realizadas. Para esto se emplearon envases plásticos descartables de 250 mL con 50 g de tierra con las mezclas de

las sustancias químicas respectivas. Al realizar estas pruebas se consideraron muertos los juveniles que se encontraron con los períopodos en posición dorsal y no realizaron ningún tipo de movimiento en 15 seg de observación bajo microscopio estereoscópico (Iannacone *et al.* 2001) o bajo observación con lupa. Las lecturas de esta prueba se efectuaron a las 24, 48 y 72 h de exposición.

Ensayo subletal de comportamiento con P. laevis: Los especímenes utilizados en estas pruebas presentaron un tamaño entre 12 a 14 mm de longitud. Los envases de plástico empleados fueron de tamaño mediano. Un solo isópodo fue colocado en el medio de cada uno de los 10 envases. Ellos debían escoger entre tres alternativas: entre la mitad con tierra no contaminada de un lado (no elección), con la tierra con la sustancia química del otro (elección) y ninguno de los dos (línea de división). La elección de cada uno de los isópodos evaluados fue documentada cada h por las 24 h que duró el ensayo. Después de cada hora observación los isópodos fueron nuevamente colocados en el medio de cada envase. En caso de mortalidad de los isópodos, fueron renovados por otros durante el ensayo de comportamiento.

Tratamiento de datos Los ensayos de toxicidad aguda de letalidad se evaluaron en cinco dosis, más un control o testigo con cuatro repeticiones, en un diseño en bloque completamente aleatorio (DBCA) de 6x4. La eficacia de los tratamientos y las repeticiones se evaluó a través de un análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías, previa transformación de los datos de mortandad a raíz cuadrada del arcoseno, con el fin de ajustar los datos a la normalidad. En el caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos y entre las repeticiones se realizó la prueba de Tukey. Los cálculos de la mortalidad corregida se realizaron mediante la fórmula de Abbott en caso de muerte natural en el grupo testigo cuando fue menor al 20% (Macedo *et al.*, 1997). Las DL₅₀ se calcularon usando el programa computarizado EPA-Probit versión 1.5. El modelo de regresión fue verificado usando el estadístico Chi-cuadrado. Las pruebas de toxicidad subletal fueron evaluados con el estadístico de Chi-cuadrado en relación a la elección/ no elección de *P. laevis* a las diferentes dosis ensayadas. Los resultados para los estadísticos descriptivos e inferenciales se analizaron mediante el paquete estadístico SPSS versión 21,0.

Aspectos éticos: los procedimientos experimentales con *P. laevis* siguieron las pautas de la “Institutional Animal Care and Use Committee” (IACUC) (APA 2012), minimizando el número de los organismos empleados, repeticiones y empleando las tres Rs “Rs-reemplazamiento, reducción, y refinamiento (Mukerjee 1997).

RESULTADOS

Fragancias

Los resultados de los ensayos sobre el comportamiento de elección con *P. laevis* con el aceite esencial de cananga, de limón, eucaliptol, geraniol, de lavanda, agua de cananga, aceite de sándalo, aceite de rosa mosqueta y aceite de loto sagrado mediante aspersión son indicados en las Tablas 1 al 9. El agua de cananga, el aceite esencial de limón, el aceite esencial de eucalipto, el aceite esencial de geranio y el aceite esencial de loto sagrado mostraron las dosis más bajas con efectos repelentes.

La Tabla 1 muestra a que a partir de la dosis de 2865 hasta 5730 mg de aceite esencial de cananga/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersión del aceite de cananga efectos repelentes.

La Tabla 2 indica que las seis dosis de 853 hasta 5118 mg de aceite esencial de limón/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersión del aceite de limón efectos repelentes.

La Tabla 3 muestra que a partir de la dosis de 922 hasta 3688 mg de aceite esencial de eucalipto/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersión del aceite de eucalipto efectos repelentes. Sin embargo, dosis mayores a 4610 mg/kg no mostraron efectos significativos en el comportamiento de *P. laevis*.

La Tabla 4 indica que las seis dosis de 879 hasta 5274 mg de aceite esencial de geranio/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersión del aceite de geranio efectos repelentes.

La Tabla 5 señala que solo la dosis de 5220 mg de aceite esencial de lavanda/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersión del aceite de lavanda efectos repelentes solo a esta dosis.

La Tabla 6 indica que tres dosis de 191 hasta 573 mg de agua de cananga/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersión del agua de cananga efectos repelentes. Las dosis entre 764 a 1146 no mostraron efectos de elección –no elección al agua de cananga.

La Tabla 7 muestra que tres dosis de 3800 hasta 5700 mg de aceite esencial de sándalo/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*,

ocasionando la aspersion del aceite esencial de sándalo efectos repelentes. Las dosis entre 950 a 2850 no mostraron efectos de elección –no elección al aceite esencial de sándalo.

La Tabla 8 indica que en tres dosis de 1840, 2760, 5520 mg de aceite esencial de rosa mosqueta/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersion del aceite esencial de rosa mosqueta efectos repelentes. Las dosis entre 920, 3680 y 4600 no mostraron efectos de elección –no elección al aceite esencial de rosa mosqueta.

La Tabla 9 muestra que las seis dosis de 956 hasta 5736 mg de aceite esencial de loto sagrado/kg de suelo se observó diferencias en el comportamiento de elección con *P. laevis*, ocasionando la aspersion del aceite de loto sagrado efectos repelentes.

Productos de limpieza

La Tabla 10 nos indica el efecto de cinco productos de limpieza a una sola concentración: verde de malaquita, aceite de pino natural, sulfonato de alquilbenceno (LAS), flucoconazol y ciprofloxacino mediante aspersion sobre el comportamiento de elección con *P. laevis*. Se observaron efectos repelentes para el verde de malaquita a 10 mg/kg, para el aceite natural de pino a 900 mg/kg y para el flucoconazol a 150 mg/kg de suelo a *P. laevis*.

Las Tablas 11-12 nos muestran el efecto del verde de malaquita y del azufre sobre la mortalidad de *P. laevis* a 24 h a 96 h de exposición. Se observó que el verde de malaquita presentó valores de DL₅₀ de mayor toxicidad que el azufre a 72 h y 96 h de exposición.

La Tabla 13 nos señala el efecto del azufre a cinco dosis entre 1000 y 5000 mg/kg mediante aspersion sobre el comportamiento de elección con *P. laevis*. Solo se observó efectos a la dosis más alta de 5000 mg de azufre/kg de suelo.

Las Tablas 15-18 nos señalan el efecto del aceite de pino natural, sulfonato de alquilbenceno (LAS), flucoconazol y ciprofloxacino sobre la mortalidad de *P. laevis* a 24 h a 96 h de exposición. El orden de toxicidad aguda a 96 h de exposición en *P. laevis* en base a la DL₅₀ fue de mayor a menor efecto: flucoconazol > ciprofloxacino > aceite de pino > LAS.

Insecticidas

La Tabla 18 nos indica el efecto de cinco insecticidas a una sola concentración: deltametrina, ivermectina, permetrina, cipermetrina, y azadiractina mediante aspersion sobre el comportamiento de elección con *P. laevis*. Se vio que solo la deltametrina a 0,0625

mg/kg mostró efecto repelente en *P. laevis*. La cipermetrina, permetrina, ivermectina y azadiractina no mostraron efectos repelentes a las dosis empleadas sobre *P. laevis*.

Las Tablas 19-23 nos muestran el efecto de la deltametrina, ivermectina, permetrina, cipermetrina, y azadiractina sobre la mortalidad de *P. laevis* a 24 h a 96 h de exposición para la mayoría de las sustancias. El orden de toxicidad aguda a 96 h de exposición en *P. laevis* en base a la DL_{50} fue de mayor a menor efecto de mortalidad: Deltametrina > cipermetrina > azadiractina > ivermectina > permetrina (Tablas 19 al 23).

DISCUSIÓN

En esta investigación se utilizaron a los isópodos *P. laevis*, los cuales son un valioso indicador ecotoxicológico de la modificación o daño en los ecosistemas terrestres, debido a que incrementan su poblaciones, y son importancia en las cadenas tróficas y por sus hábitos alimenticios, Faulkner & Lochmiller (2000) evaluaron sitios contaminados con residuos petroquímicos usando como bioindicadores *P. laevis*. Pankhurst (1997) utilizó otro tipo de bioindicador como los colémbolos, los cuales se utilizaron para evaluar la calidad de suelos contaminados, debido a que pueden sobrevivir en la presencia de metales pesados.

Entre las fragancias, el agua de cananga, el aceite esencial de limón, el aceite esencial de eucalipto, el aceite esencial de geranio y el aceite esencial de loto sagrado mostraron a dosis bajas efectos subletales repelentes. El aceite esencial de cananga ha sido evaluado en la industria cosmética e industrial como un antimicrobiano, antioxidante, como antiradicales, tratamiento de malaria, dolor estomacal, asma, reumatismo y en aromaterapia (Sacchetti *et al.*, 2015; Tan *et al.*, 2015). *Cananga odorata* ha sido evaluada como un agente insecticida sobre mosquitos y gorgojos (Phasomkusolsil & Soonwera, 2011; Cheng *et al.*, 2012; Bushra & Tariq, 2014; Muñoz *et al.*, 2014). Soonwera (2015) ha encontrado efectos deterrentes de la actividad de oviposición de la *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). Otros aceites esenciales evaluados en el presente estudio también han mostrado efectos repelentes en insectos (Yang *et al.*, 2004; Nerio *et al.*, 2009).

Entre los productos de limpieza el verde de malaquita mostró los mayores efectos letales y subletales repelentes sobre *P. laevis*. Srivastava *et al.* (2004) señalan que el verde de malaquita es ampliamente empleado como parasiticida, en alimentos, textil, industria y otros usos. Sin embargo, el verde de malaquita tiene efectos carcinogénicos y mutagénicos. Gopinathan *et al.* (2015) evaluaron la toxicidad del verde malaquita sobre hongos de suelo,

bacterias de suelo, lombrices, y germinación de semillas de plantas cultivables. El verde de malaquita ocasiona alteraciones morfológicas evidentes en la lombriz de tierra. La germinación de las semillas de plantas cultivadas no fueron afectadas por el verde de malaquita. Sin embargo, el crecimiento y fisiología de hongos y bacterias de suelo, son afectados por el verde de malaquita. Esto autores concluyen que el verde de malaquita es ecotóxico y de gran preocupación en la salud del suelo, pudiendo ocasionar una disrupción ecosistémica.

Entre los insecticidas, la deltametrina mostró los mayores efectos letales y subletales repelentes sobre *P. laevis*. Unkiewickz-Winiarczyk *et al.* (2005) encontraron que la deltametrina ocasiona alta mortalidad en los adultos de *Porcellio scaber* Latr. Y también observaron una disminución significativa de la actividad alimentaria. La lombriz de tierra *Eisenia fetida* también ha observado efectos tóxicos a exposiciones agudas en la supervivencia, crecimiento, en la actividad de la celulasa y de la enzima CYP3A4 por acción de la deltametrina (Shi *et al.*, 2007; Song *et al.*, 2015). La deltametrina ocasiona efectos subletales a nivel celular en el tracto digestivo y el sistema nervioso del efemeróptero *Callibaetis radiatus* (Gutierrez *et al.*, 2016).

Nuestros resultados respaldan la interpretación de que el porcentaje de preferencia de *P. laevis* a la zona contaminada es mayor en las concentraciones menores y que el porcentaje disminuye a concentraciones mayores de las sustancias químicas empleadas. Mientras que en la preferencia por ninguna de estas zonas, antes mencionadas se mantiene casi constante entre las concentraciones intermedias. En nuestro trabajo los isópodos *P. laevis* tuvieron mayormente una preferencia por tierra no contaminada, lo que se puede explicar con la investigación de Donker (1992) quien asegura que el evitamiento es también un mecanismo por el cual los organismos terrestres pueden resistir a los contaminantes. Opuestamente, Iannacone *et al.* (2001) concluye que este isópodo no tiene la capacidad de discriminar una concentración de plomo en el suelo. Podemos afirmar que por el fuerte olor que tienen muchas de las sustancias químicas empleadas, los isópodos pueden discriminar entre tierra contaminada o no contaminada. Como lo afirma Iannacone *et al.* (2001), el evitamiento va a depender de las concentraciones evaluadas y del tóxico en análisis. Yeardeley *et al.* (1996) sugiere que las pruebas de comportamiento de preferencia-no preferencia, tienen ciertas ventajas sobre las pruebas de toxicidad. Las ventajas potenciales de estas pruebas incluyen incremento de sensibilidad, mediciones de un punto final ecológico no determinado por las pruebas agudas o subletales.

Como se puede observar *P. laevis* es una especie sensible a la exposición de tóxicos, por lo cual constituye un ejemplar adecuado para pruebas de toxicidad (Jansch *et al.*, 2006); siendo importante resaltar también que es una especie de fácil manejo, la cual es muy abundante en nuestro medio. Estas características especiales que presenta *P. laevis* nos permitieron seleccionarlo como el sujeto de nuestro estudio.

CONCLUSIONES

- Los resultados evidencian una secuencia en orden decreciente de toxicidad subletal de los insecticidas > productos de limpieza > fragancias.
- Entre las fragancias, el agua de cananga, el aceite esencial de limón, el aceite esencial de eucalipto, el aceite esencial de geranio y el aceite esencial de loto sagrado mostraron las dosis más bajas con efectos subletales repelentes.
- Entre los productos de limpieza el verde de malaquita mostró los mayores efectos letales y subletales repelentes sobre *P. laevis*.
- Entre los insecticidas, la deltametrina mostró los mayores efectos letales y subletales repelentes sobre *P. laevis*.
- *Porcellio laevis* es un bioindicador de toxicidad para la evaluación de fragancias, insecticidas y productos de limpieza en el Perú.

REFERENCIAS

- APA (American Psychological Association). 2012. *Guidelines for Ethical Conduct in the Care and Use of Nonhuman Animals in Research*. Washington, 14 pp.
- BURTON, GA & NORDSTROM, JE. 2004. An *in situ* toxicity identification evaluation method part I: Laboratory validation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23:2844-2850.
- BUSHRA, S & TARIQ, M. 2014. Use of essential oils for the management of different species of Dengue mosquitoes. *International Journal of Advances Biology*, 1: 29-41.
- CHARRIEL, G. 2003. *Investigación de la actividad de un nuevo antifúngico de interés clínico*. Tesis doctoral, Universidad de Cordova. Disponible en: <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/378/13208548.pdf?sequence1> leído el 10 de noviembre del 2013.
- CHENG, J, YANG, K, ZHAO, NN, WANG, ZG, WANG, SY & LUI, ZJ. 2012. Composition and insecticidal activity of the essential oil of *Cananga odorata* leaves against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 3482-3486.

- DAUGHTON, CG & TERNES, TA. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. *Environmental Health Perspectives*, 107: 907-938.
- DA SILVA, JR, FMR, GARCÍA, EM, BAISCH, PRM, MIRLEAN, N & MUCCILLO-BAISCH AL. 2013. Assessment of a soil with moderate level of contamination using lettuce seed assay and terrestrial isopods assimilation assay. *Soil & Water Research*, 2: 56-62.
- DONKER, MH. 1992 Energy reserves and distribution of metals in populations of the isopod *Porcellio scaber* from metal-polluted sites. *Functional Ecology*, 6:445-454.
- FAULKNER, BC & LOCHMILLER, RL. 2000. Increased abundance of terrestrial isopod populations in terrestrial ecosystems contaminated with petrochemical wastes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39: 86-90.
- FENT K , WESTON A , CAMINADA D. 2006. Ecotoxicología de los productos farmacéuticos humanos. *Aquatic Toxicology*, 76: 122-159.
- DROBNE WD. 1997. Terrestrial isopods – a good choice for toxicity testing of pollutants in the terrestrial environment. *Environm. Toxicol. Chem.* 16: 1159-1164.
- DROBNE, D, BLAZIC, M, VAN GESTEL, C, LESER, V, ZIDAR, P, JEMEE, A & TREBSE, P. 2008. Toxicity of imidacloprid to the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Isopoda, Crustácea). *Chemosphere*, 71: 1326-1334.
- FONTANETTI, CS, LARISSA ROSA NOGAROL, RAPHAEL BASTÃO DE SOUZA, DANIELLI GIULIANO PEREZ & GUILHERME THIAGO MAZIVIERO, T. 2011. Bioindicators and Biomarkers in the Assessment of Soil Toxicity, Soil Contamination, MSc Simone Pascucci (Ed.), ISBN: 978-953-307-647-8, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/soil-contamination/bioindicators-and-biomarkers-in-the-assessment-of-soil-toxicity>.
- GAW, S. 2009. Options for assessing the bioavailability of metals to soil dwelling organisms. *Chemistry in the New Zealand*, 150-157.
- GOPINATHAN, R, KANHERE, J & BANERJEE, J. 2015. Effect of malachite green toxicity on non target soil organisms. *Chemosphere*, 120: 637-644.
- GREGORY, BS. 2005. Estructura y actividad de los antifúngicos. Instituto Cubano de Investigaciones de Derivados de la Caña de Azúcar. *Revista Cubana de Farmacología*, 39: En: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v39n2/far12205.pdf> leído el 10 de diciembre del 2013.
- GUTIÉRREZ, Y, SANTOS, HP, SERRAO, JE & OLIVEIRA, EE. 2016. Deltamethrin-mediated toxicity and cytomorphological changes in the midgut and nervous system of the mayfly *Callibaetis radiatus*. *PLoS ONE*, 11: e0152383.

- HALLING-SØRENSEN, B, NOR NIELSEN, S, LANZKY, PPF, INGERSLEV, F, LÜTZHØFT, HC & JORGENSEN, SE. 1998. Occurrence, fate, and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere*, 36: 357-393.
- IANNACONE, J & ALVARIÑO, L. 2002. Efecto del detergente domestico Alquil Aril Sulfonato de Sodio Lineal (LAS) sobre la mortalidad de tres caracoles dulceacuícolas en el Perú. *Ecología Aplicada*, 1:81-87.
- IANNACONE, J & ALVARIÑO, L. 2007. Ecotoxicidad acuática de dos colorantes y de tres antiparasitarios de importancia en acuicultura en *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 6: 101-110.
- IANNACONE, J, DALE, W & ALVARIÑO, L. 2000. Monitoreo ecotoxicológico del río Rímac (Lima-Perú) empleando a *Chironomus calligraphus* Goeldi (Diptera: Chironomidae). *Revista Chilena de Entomología*, 27: 25-34.
- IANNACONE, J & LAMAS, G. 2003. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. *Entomotropica*. 18: 95-105.
- IANNACONE, J, ALAYO, M, ABANTO, M, SÁNCHEZ, J & ZAPATA, E. 2001. *Porcellio laevis* como bioindicador para la evaluación del plomo. *Revista Peruana de Entomología*, 42: 175-183.
- IWAI, CB & NOLLER, BN. 2008. Ecotoxicological assessment of contaminated land using biomonitoring tools for sustainable land use in Thailand. *Australian Journal of Ecotoxicology*, 14: 143-153.
- JÄNSCH, S, FRAMPTON, GF, RÖMBKE, J, VAN DER BRINK, PJ & SCOTT-FORDSMAND, JJ. 2006. Effects of pesticides on soil invertebrates in model ecosystem and field studies: A Review and comparasion with laboratory toxicity data. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 2490-2501.
- JJEMBA, PK. 2006. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 113-130.
- JURADO, C. 1989. *Toxicología Veterinaria*. 2ª ed., Barcelona: Editorial Salvat.
- LEISTIKOW, A & WAGELE J. 1999. Checklist of the terrestrial isopods of the New World (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Revista Brasileira de Zoologia*, 16: 1-72.
- MACEDO, ME, CONSOLI, RA, GRANDE, TS, DOS ANJOS, AM, DE OLIVEIRA, AB, MENDES, NM, QUEIROZ, RO & ZANI, CL. 1997. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 565-570.
- MUKERJEE, M. 1997. Trends in Animal Research. *Scientific American*, 86-93.

- MUÑOZ, JAV, STASCENKO, E & OCAMPO, DCB. 2014. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas nativas contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 40: 198-202.
- NERIO, LS, OLIVERO-VERBEL, J & STASHENKO, EE. 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Product Research*, 45: 212-214.
- NIEMEYER JC, SANTOS VC, ARAÚJO, PB & DA SILVA, EM. 2009. Reproduction of *Cubaris murina* (Crustacea: Isopoda) under laboratory conditions and its use in ecotoxicity tests. *Brazilian Journal of Biology*, 69: 137-142.
- PANKHURST, BM & GUPTA, VV. 1997. *Biological indicator of soil health*. CABI, Wallingford, Oxon. 451 p.
- PEREZ, D, IANACONE, J & TUEROS, A. 2008. Toxicidad de *Paullinia clavigera* (Sapindaceae) y *Chondrodendron tomentosum* (Menispermaceae) sobre el piojo saltador del Camu Camu *Tuthillia cognata* (Hemiptera: Psyllidae). *Gayana Botánica*, 65: 145-152.
- PHASOMKUSOLSIL, S & SOONWERA, M. 2011. Efficacy of herbal essential oils as insecticide against *Aedes aegypti* (Linn.), *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison). *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 42: 1083-1092.
- PROSI, F & DALLINGER, R. 1988. Heavy metals in terrestrial isopods *Porcellio scaber* Latreille. I. Histochemical and ultrastructural characterization of metals containing lysosomes. *Cell Biology Toxicol*, 4: 81-96.
- SACCHETTI, G, MAIETTI, S, MUZZOLI, M, SCAGLIANTI, M, MANFREDINI, S, RADICE, M & BRUNI, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91: 621-632.
- SHI, Y, SHI, Y, WANG, X, LU, Y & YAN, S. 2007. Comparative effects of lindane and deltamethrin on mortality, growth, and cellulase activity in earthworm (*Eisenia fetida*). *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 89: 31-38.
- SONG, Y, KAI, J, SONG, X, ZHANG, W. & LI, L. 2015. Long-term toxic effects of deltamethrin and fenvalerate in soil. *Journal of Hazardous Materials*, 289: 158-164.
- SOONWERA, M. 2015. Larvicidal and oviposition deterrent activities of essential oils against house fly (*Musca domestica* L.; Diptera: Muscidae). *Journal of Agricultural Technology*, 11: 657-667.
- SRIVASTAVA, S, SINHA, R & ROY, D. 2004. Toxicological effects of malachite Green. *Aquatic Toxicology*, 66: 319-329.

- TAN, LTH, LEE, LH, YIN, WF, CHAN, CK, KADIR, HA, CHAN, KG & GOH, BH. 2015. Traditional uses, phytochemistry and bioactivities of *Cananga odorata* (Ylang-Ylang). Evidence-Based Complementary and alternative Medicine, ID 896314, 30 pp.
- THOMAS, R, & BARBER, K. 2011. Fungal Guide: Clotrimazole. Disponible en: www.fungalguide.ca leído el 10 de diciembre del 2013.
- UNKIEWICZ-WINIARCZYK, A, GROMYSZ-KALKOWSKA, K & SZUBARTOWSKA, E. 2005. Effect of deltamethrin on mortality and oxygen consumption in *Porcellio scaber* Latr (Isopoda). *Chemia I Inzynieria Ekologiczna*, 12: 1147-1153.
- YANG, YCH, LEE, HS, CLARK, JM & AHN, YJ. 2004. Insecticidal activity of plant essential oils against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Medical Entomology*, 41: 699-704.

Tabla 1. Efecto del aceite esencial de cananga (*Cananga odorata*, Annonaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
955	49,45	8,33	42,16	0,28	0,59
1910	51,04	7,29	41,67	0,45	0,5
2865	60,41	8,33	31,25	4,95	0,02
3820	62	7,79	30,2	5,96	0,01
4775	64,16	9,87	26,04	8,88	0,003
5730	66,67	9,37	23,95	11,21	0,0008

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 2. Efecto del aceite esencial de limón (*Citrus x limon*, Rutaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
853	82,90	5,18	11,92	31,37	<0,0001
1706	61,46	17,71	20,83	11,27	0,0008
2559	59,38	15,10	25,52	7,15	0,0075
3412	60,42	15,10	24,48	8,72	0,0031
4265	64,55	13,23	22,22	12	0,0005
5118	72,54	6,74	20,73	16,77	0,0001

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 3. Efecto del aceite esencial de eucalipto (eucaliptol) (*Eucalyptus globulus*, Myrtaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
922	84,9	3,65	11,46	32,33	<0,0001
1844	83,33	4,69	11,98	31,37	0,0001
2766	86,98	5,73	6,77	42,29	<0,0001
3688	70,31	4,69	25,00	11,55	0,0007
4610	53,65	4,69	41,67	0,77	0,38
5532	56,77	1,56	41,67	1,15	0,28

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 4. Efecto del aceite esencial de geranio (geraniol) (*Pelargonium peltatum*, Myrtaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
879	75,51	3,49	25,00	17,17	<0,0001
1758	80,51	0,85	18,64	21,26	<0,0001
2637	73,53	1,96	24,61	12,97	0,0003
3516	76,19	1,19	22,62	15,35	0,0001
4395	83,33	1,04	15,63	25,70	<0,0001
5274	72,27	0,00	22,73	13,83	0,0002

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química.
 % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. %
 elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 5. Efecto del aceite esencial de lavanda (*Lavandula angustifolia*, Lamiaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
870	41,64	0,55	57,81	1,29	0,25
1740	44,86	0,89	51,25	0,19	0,66
2610	60,96	1,02	38,02	2,72	0,09
3480	47,43	2,05	50,52	0,08	0,77
4350	49,72	1,32	48,96	0,01	0,94
5220	68,17	1,27	30,56	7,2	0,007

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 6. Efecto del agua de cananga (*Cananga odorata*, Annonaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
191	56,77	12,5	30,73	4,17	0,04
382	53,65	18,23	28,13	4,62	0,03
573	57,29	11,98	30,73	4,17	0,04
764	44,79	10,42	44,79	0,00	1,00
955	47,92	4,69	47,4	0,01	0,94
1146	34,9	20,83	44,27	0,33	0,56

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 7. Efecto del aceite esencial de sándalo (*Santalum album*, Santalaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
950	48,33	2,72	48,95	0,01	0,94
1900	56,66	3,85	39,49	1,74	0,18
2850	59,58	2,99	37,43	2,81	0,09
3800	65,83	3,14	31,03	6,62	0,01
4750	68,33	2,45	29,22	8,28	0,004
5700	74,58	1,86	23,56	14,13	0,0002

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 8. Efecto del aceite esencial de rosa mosqueta (*Rosa eglanteria*, Rosaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
920	56,77	5,72	41,86	1,15	0,28
1840	60,41	9,37	30,20	5,4	0,02
2760	60,93	16,14	22,91	9,76	0,001
3680	55,20	11,97	32,81	2,57	0,08
4600	52,60	11,45	35,93	1,73	0,18
5520	63,54	7,81	28,64	7,06	0,008

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 9. Efecto del aceite esencial de loto sagrado (*Nelumbo nucifera*, Nelumbonaceae) sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
956	74,25	0,83	24,92	12,97	0,0003
1912	85,24	2,33	12,43	32,33	<0,0001
2868	86,32	3,02	10,66	34,43	<0,0001
3824	89,47	0,45	10,08	38,10	<0,0001
4780	91,15	1,99	6,86	44,34	<0,0001
5736	89,22	1,76	9,02	39,42	<0,0001

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 10. Efecto del productos de limpieza sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Sustancia química	mg /Kg	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
Verde de malaquita	10	71,81	9,39	18,80	17,63	0,00
Aceite de pino natural	900	70,10	0,80	29,10	8,88	0,003
Sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS)	9328	28,39	29,17	42,44	1,64	0,20
Fluconazol	150	58,33	23,34	18,33	12,45	0,00
Ciprofloxacino	100	37,13	0	62,87	3,37	0,09

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 11. Efecto del verde de malaquita sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* de 24 h a 96 h de exposición. ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	0±0	0±0	0±0	10±8,16
50	0±0	0±0	5±5,77	20±8,16
100	0±0	10±8,16	15±5,77	35±5,77
200	5±5,77	15±5,77	25±5,77	55±5,77
400	55±5,77	80±0	95±5,77	100±0
DL ₅₀	380,6	277,1	212,1	114,4
DL ₅₀ inferior	350,2	167,8	59,4	ND
DL ₅₀ superior	422,2	855,3	>1000	ND

Tabla 12. Efecto del azufre sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* de 24 h a 96 h de exposición.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
1000	0±0	0±0	0±0	0±0
2000	0±0	0±0	0±0	0±0
3000	0±0	0±0	0±0	0±0
4000	0±0	0±0	15±5,77	42,5±5,0
5000	0±0	0±0	55±5,77	95±5,77
DL ₅₀	ND	ND	4869	4105
DL ₅₀ inferior	ND	ND	46699	4000
DL ₅₀ superior	ND	ND	5100	4207

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química. ND = No determinado.

Tabla 13. Efecto del azufre sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Dosis (mg/Kg)	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
1000	53,00	2	45,00	0,33	0,56
2000	48,00	1	51,00	0,05	0,83
3000	53,00	3	44,00	0,42	0,51
4000	58,00	2	40,00	1,68	0,19
5000	89,00	2	9,00	39,42	0,000

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 14. Efecto del aceite de pino sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* de 24 h a 96 h de exposición. ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
56,25	0±0	0±0	0±0	0±0
112,5	0±0	0±0	0±0	0±0
225	0±0	10±8,16	20±8,16	32,5±5,00
450	0±0	20±8,16	22,5±5,00	27,5±9,57
900	0±0	22,5±5,00	25±5,77	30±8,16
DL ₅₀	>900	>900	>900	600,2
DL ₅₀ inferior	ND	ND	ND	303,7
DL ₅₀ superior	ND	ND	ND	>1000

Tabla 15. Efecto del Sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS) sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* de 24 h a 96 h de exposición. ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
583	0±0	0±0	0±0	0±0
1166	0±0	0±0	0±0	0±0
2332	0±0	0±0	0±0	0±0
4664	0±0	2,5±5,00	2,5±5,00	2,5±5,00
9328	20±8,16	20±8,16	22,5±5,00	25±5,77
DL ₅₀	>9328	>9328	>9328	>9328
DL ₅₀ inferior	ND	ND	ND	ND
DL ₅₀ superior	ND	ND	ND	ND

Tabla 16. Efecto del fluconazol sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 96 h de exposición. ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
37,5	0±0	0±0	0±0	0±0
75	0±0	0±0	0±0	0±0
150	5±5,77	10±8,16	40±8,16	50±0
300	10±8,16	20±8,16	55±5,77	70±0
600	20±8,16	35±5,77	60±0	85±5,77
DL ₅₀	>600	>600	325,1	212,2
DL ₅₀ inferior	ND	ND	119,2	98,5
DL ₅₀ superior	ND	ND	>700	55,9

Tabla 17. Efecto del ciprofloxacino sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 96 h de exposición. ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
50	0±0	0±0	0±0	0±0
100	0±0	0±0	0±0	0±0
150	0±0	0±0	0±0	0±0
250	0±0	2,5±5,00	5±5,77	7,5±5,00
350	17,5±5,00	22,5±5,00	30±8,16	40±8,16
DL ₅₀	>350	>350	>350	>350
DL ₅₀ inferior	ND	ND	ND	ND
DL ₅₀ superior	ND	ND	ND	ND

Tabla 18. Efecto de productos insecticidas sobre el ensayo de comportamiento de elección de *Porcellio laevis*.

Sustancia química	mg /kg	% no elección	% línea media	% elección	X ²	Sig
Cipermetrina	6	37,5	18,75	43,75	0,36	0,54
Deltametrina	0,0625	71,81	9,39	18,78	17,65	0,000
Permetrina	12,5	56,77	1,04	42,18	1,09	0,29
Ivermectina	12,5	20,05	49,22	30,73	1,50	0,22
Azadiractina	1,8	36,72	4,69	58,59	2,60	0,10

% no elección = Porcentaje de individuos que no prefieren el área con la sustancia química. % línea media = Porcentaje de individuos que no prefieren ninguna de las dos áreas. % elección = Porcentaje de individuos que prefieren el área con la sustancia química.

Tabla 19. Efecto de la ivermectina mediante aspersión sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 72 h de exposición.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad		
	24 h	48 h	72 h
0	0±0	0±0	0±0
12,5	0±0	0±0	0±0
25	12,5±5,00	20±8,16	22,5±5,00
50	45±5,77	47,5±5,00	62,5±9,57
100	75±10	82,5±5,00	87,5±5,00
200	80±0	100±0	100±0
DL ₅₀	68,3	49,7	43,1
DL ₅₀ inferior	42,9	44,9	39,1
DL ₅₀ superior	127,1	54,9	47,5

Tabla 20. Efecto de la deltametrina mediante aspersión sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 96 h de exposición.

ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
0,0625	5±5,77	7,5±5,00	10±8,16	12,5±5,00
0,125	85±5,77	87,5±5,00	95±5,77	97,5±5,00
0,25	95±5,77	97,5±5,00	100±0	100±0
0,5	100±0	100±0	100±0	100±0
1	100±0	100±0	100±0	100±0
DL ₅₀	0,100	0,094	0,087	0,080
DL ₅₀ inferior	ND	ND	0,082	0,076
DL ₅₀ superior	ND	ND	0,092	0,086

Tabla 21. Efecto de la permetrina mediante aspersion sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 96 h de exposicion.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad			
	24 h	48 h	72 h	96 h
0	0±0	0±0	0±0	0±0
12,5	0±0	2,5±5,00	2,5±5,00	5±5,77
25	2,5±5,00	2,5±5,00	10±8,16	12,5±5,00
50	5±5,77	12,5±5,00	20±8,16	27,5±9,57
75	22,5±5,00	32,5±5,00	37,5±5,00	42,5±5,00
100	30±8,16	40±8,16	55±5,77	67,5±5,00
DL ₅₀	160,6	130,1	98,4	81,6
DL ₅₀ inferior	126,3	106,6	84,1	72,1
DL ₅₀ superior	248,8	177,6	122,2	95,2

Tabla 22. Efecto de la cipermetrina mediante aspersion sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 72 h de exposicion.

ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad		
	24 h	48 h	72 h
0	0±0	0±0	0±0
6	12,5±5,00	12,5±5,00	32,5±5,00
10	22,5±5,00	32,5±5,00	45±5,77
14	37,5±5,00	52,5±5,00	65±5,77
18	45±5,77	57,5±5,00	70±0
22	55±5,77	65±5,77	75±10
DL ₅₀	16,7	14,9	10,2
DL ₅₀ inferior	ND	13,5	8,7
DL ₅₀ superior	ND	16,6	11,6

Tabla 23. Efecto de la azadiractina mediante aspersion sobre la mortalidad de *Porcellio laevis* a 24 h a 72 h de exposicion.

ND = No determinado.

Dosis (mg/Kg)	% mortalidad		
	24 h	48 h	72 h
0	0±0	0±0	0±0
1,8	2,5±5,00	5±5,77	7,5±5,00
3,6	0±0	10±8,16	12,5±5,00
7,2	10±0	10±0	20±8,16
18	12,5±5,00	20±8,16	25±5,77
36	32,5±5,00	50±0	55±5,77
DL ₅₀	91,5	43,1	37,1
DL ₅₀ inferior	ND	ND	ND
DL ₅₀ superior	ND	ND	ND