

## Estudio de las alteraciones producidas por un vertido experimental de Diflubenzurón en los macroinvertebrados de un río

M. SAINZ DE LOS TERREROS Y D. GARCIA DE JALON

Estudiamos los efectos del Diflubenzurón (DFB) en la comunidad de macroinvertebrados bentónicos del río Aulencia (Cuenca del río Tajo) sometidos durante dos horas a un vertido experimental de 265 ug/l DFB.

Los efectos de este insecticida se han evaluado mediante el análisis de la comunidad a través de parámetros cuantitativos: biomasa, densidad, riqueza faunística, diversidad y estructura trófica.

Un día después de haber arrojado el DFB se detecta un efecto tóxico inmediato en la comunidad; la biomasa disminuye la cuarta parte y la densidad más de la mitad, reduciéndose el número de todos los taxones a excepción de *Caenis luctuosa* que aumenta. Seguidamente la comunidad se recupera rápidamente debido a la deriva fluvial. En el muestreo, a los 23 se detecta un segundo impacto en la Comunidad, debido a la inhibición de la muda de los macroinvertebrados, quedando muy pocos individuos en el río. Más tarde, vuelven a recuperarse pero tres meses después del vertido del DFB la comunidad no está todavía totalmente restablecida.

Las especies que, en este estudio, son más sensible al DFB son los insectos acuáticos: en especial *Baetis spp.*, *Chimarra marginata*, *Hydropsyche lobata*, *Rhyacophila munda* y *Chironomidae*. Los lumbricícolas no parecen ser afectados en ningún momento y aumentan su densidad.

M. SAINZ DE LOS TERREROS Y D. GARCIA DE JALON Laboratorios de Hidrobiología, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. Ciudad Universitaria. 28040 - Madrid

**Palabras clave:** diflubenzuron, insecticidas, macroinvertebrados, ríos.

### INTRODUCCIÓN

Los inhibidores de la muda de los artrópodos son un grupo de productos fitosanitarios entre los cuales se encuentra el diflubenzuron, cuya fórmula es 1-(4-clorofenil)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea. El DFB (diflubenzurón), inhibe la síntesis de la quitina impidiendo la muda de los organismos con cutícula.

Este plaguicida se utiliza contra insectos perjudiciales pero puede afectar también a insectos acuáticos no dañinos.

El DFB (diflubenzurón) actúa sobre las

larvas y huevos de insectos al inhibir la síntesis de la quitina e impedir el paso de un estadio larvario al siguiente. Cuando se tratan insectos en su última fase larvaria lo que se impide es la formación de la pupa, o del adulto según sea el caso. El DFB no afecta a los insectos adultos tratados directamente (ROBREDO, 1980). Cuando es ingerido por las hembras sexualmente maduras (MATOLIN KULDOVA, 1982) o se pone en contacto con los huevos, ocurre que la larva se desarrolla dentro del huevo pero, al haber causado el DFB deficiencias en la quitina de la cutícula, los huevos no pueden

eclosionar o, si lo consiguen mueren poco después.

El DFB es un producto que actúa al ser ingerido; es un veneno de ingestión. Parece ser que no actúa por contacto pero no hay unanimidad de opiniones al respecto: MÜLDER Y GIJSWIJT (1973) y LACEY Y MULLA (1978) no observan efectos del DFB por contacto; GROSSCURT (1978) dice que en algunos sí los hay; y la casa Duphar, fabricante del DFB, afirma que el DFB es tóxico por contacto para algunas especies como por ejemplo *Spodoptera littoralis* (DUPHAR, 1985). De todos modos, la principal vía de acción del diflubenzurón es la ingestión.

Este insecticida suele fumigarse desde avionetas y puede llegar al medio acuático a través de la hojarasca y demás materia orgánica de la vegetación tratada que, al caer al agua, es procesada y transportada aguas abajo constituyendo la principal fuente de energía alóctona en los ríos. SWIFT *et al.*, (1988 a,b) han encontrado que las hojas y detritos vegetales tratados con dimilín al llegar a los ríos resultan tóxicos para los macroinvertebrados que se alimentan de ellos. El DFB también puede llegar al medio acuático a través del arrastre del agua de escorrentía o al caer directamente a las masas de agua incluídas en el terreno que se fumiga.

El uso reciente y en aumento del DFB, junto con la probabilidad de que el DFB llegue al medio fluvial afectando a los organismos con cutícula, nos ha motivado a estudiar sus efectos en un río.

## ANTECEDENTES

El diflubenzurón actúa sobre las larvas y no sobre los adultos. En la mayoría de las especies de artrópodos, los primeros estadios son los más sensibles al DFB (COURDRIET, 1979; STONER & WILSON, 1982). ROBREDO (1980) expone que, aunque la procesionaria del pino (*Thaumetopoea pytiocampa*) -plaga forestal- puede ser tratada eficazmente en cualquier momento de su

desarrollo larvario, la acción del diflubenzurón es más rápida y deja menos tiempo para que las orugas dañen a los pinares si se aplica sobre los primeros estadios larvarios.

Según los países y sus necesidades, el diflubenzurón se emplea para controlar insectos dañinos de cultivos agrícolas y de árboles frutales, contra plagas forestales y contra mosquitos de zonas húmedas (SCHAEFER DUPRAS, 1977; REED BASS, 1980). En España se utiliza actualmente para combatir insectos defoliadores, sobre todo la procesionaria del pino y también la lagarta peluda *Lymantria dispar*, tratándose una media de 200.000 hectáreas de arbolado al año (SORIA *et al.*, 1986).

La formulación más habitual del DFB para su utilización forestal es el dimilín ODC-45 (45% de diflubenzurón) y la dosis recomendada (ROBREDO 1980) es de 125 gramos de DFB disueltos en 5 litros de gasoil, por hectárea. Ocasionalmente se emplea el Dimilín 25 WP (polvo mojable con un 25% de diflubenzurón), en dosis de 250 gramos de la formulación disueltos en 20 litros de agua por hectárea (ROBREDO 1980). Como el vehículo del Dimilín ODC-45 es el gasoil, aquél resulta mucho más persistente que el Dimilín 25 WP que puede ser lavado fácilmente por la lluvia.

Se ha determinado la persistencia del DFB en la vegetación. En pastos regados y tratados cuatro veces consecutivas con 0,04 lb de materia activa por acre de Dimilín 25 WP se observan residuos durante largo tiempo (SCHAEFER & DUPRAS, 1977). En pinares tratados con Dimilín ODC-45 en dosis de 125 g/Ha el poder insecticida del DFB permanece en las acículas al menos hasta dos años después de su tratamiento (SORIA *et al.*, 1986). Y en pinares mediterráneos a los que se aplicó Dimilín 25 WP en una concentración de 225 gramos de producto por hectárea, el DFB ha persistido en la vegetación entre 200 y 300 días (ZAFRA *et al.*, 1984 a). Respecto a la persistencia en el suelo, SCHAEFER & DUPRAS (1977) no la observan en pastos regados a los que se ha aplicado Dimilín 25 WP al igual que en su estudio del dimilín en la

vegetación. ROBREDO *et al.*, (1984) han observado en el suelo de pinares mediterráneos, que las curvas de degradación presentan un acusado descenso en los primeros días, siendo las vidas medias en el suelo inferiores a los 30 días.

En el agua la concentración de saturación del DFB es de 0.1 mg/l. a una temperatura de 20-25° C (DUPHAR, 1985). Su persistencia en el agua depende de la cantidad que se hidroliza, la cual varía con la temperatura y el pH. En agua destilada o carente de materia orgánica a 22° C, con un pH de 5 a 7, el DFB en solución acuosa de 0.1 mg/l., en oscuridad, permanece estable unos 150 días. Análogamente, a la misma temperatura pero en un medio básico de pH 9, la vida media del DFB, en esa solución, es de 44 días (DUPHAR 1985). Si se mantiene la temperatura a 36° C y el medio es ácido con un pH 4, a los 56 días todavía no se ha degradado la mitad de la cantidad inicial; si es pH es 7 la vida media del DFB es de 7 días y cuando el pH aumenta a 10 su vida media no llega a los tres días (IVIE *et al.*, 1980). Resumiendo: en el agua, la degradación del DFB es más rápida en medio básico y con temperatura alta (IVIE *et al.*, 1980)

Respecto al efecto del DFB en los organismos acuáticos del bentos han sido realizadas algunas esperiencias, pero señalamos que los trabajos que se citan han sido realizados en condiciones artificiales y que en el medio natural (río, lago), además de agua hay microorganismos en la materia orgánica que hay en el lecho y en las partículas que lleva el agua, los cuales degradan el DFB.

Manteniendo dosis de DFB muchos más altas que las aplicadas en un tratamiento forestal normal, durante varios días. HANSEN Y GARTON (1982) han estudiado en canales artificiales construidos al efecto, cuanto tiempo soportan los macroinvertebrados dosis mínima de DFB. Han observado que los efemerópteros desaparecen si se les mantiene durante un mes en una solución de 1.0 ug de DFB/l de agua y que bajo las mismas condiciones, el número de plecópteros disminuye, en mayor o menor cantidad según la especie de que se trate. Si la

concentración de DFB aumenta a 10 ug/l, además, la densidad de quironómidos desdiende al mes, y a los 5 meses los quironómidos desaparecen totalmente. Manteniendo esta misma concentración de 10 µg/l MIURA y TAKAHASHI (1974) observan en el laboratorio que el 30% de los notonéctidos se eliminan a los 3 días y que el 90% de los efemerópteros y de los quironómidos desaparecen a la semana del tratamiento. O sea que con la misma dosis que emplean HANSEN Y GARTON (1982), 10 µg/l observan en quironómidos efectos más drásticos. ALI y LORD (1980) detectan como disminuyen los efemerópteros al introducirlos en una solución de agua de 6 y 12 ug de DFB/l y como se recuperan a los 9 días. Con 10 ug/l el número de oligoquetos aumenta durante los primeros meses, debido seguramente a la disminución de la competencia de otros macroinvertebrados que desaparecen (efemerópteros, plecópteros), hasta que al cabo de 4 meses los oligoquetos también comienzan a escasear (HANSEN y GARTON, 1982). Los coleópteros y los odonatos son más resistentes al DFB: con dosis de 10 ug/l no se aprecian efectos en los coleópteros durante cinco meses (HANSEN y GARTON, 1982) y, aumentando la dosis a 50 ug/l y observando lo que ocurre siete días después tampoco se detecta que los coleópteros y odonatos hayan disminuido o aumentado su número (MIURA y TAKAHASHI, 1974).

En algunas fumigaciones de diflubenzurón se ha aprovechado para estudiar los efectos del producto en los organismos de charcas y ríos de los terrenos fumigados. Dosis de 28 g/Ha son suficientes para que, a los dos o tres días, desaparezca la mayoría de los efemerópteros y quironómidos en las charcas, si bien los efemerópteros fluctúan disminuyendo y aumentando su número (MIURA y TAKAHASHI, 1974, 1976; ALI y LORD, 1980). Estudiando el efecto del DFB en el bentos de un río que pasa por un bosque, un mes después de la fumigación con 70 g/Ha no se detecta influencia del DFB en efemerópteros, plecópteros y tricópteros (RABENI Y GIBBS 1985, en GIJSWIJT, 1984; BOCSOR y MOORE, 1975 en GIJSWIJT, 1984).

Al realizar fumigaciones seguidas (8 aplicaciones de 22.4 g/Ha en un periodo de 2 años, 64 aplicaciones de 28 g/Ha durante 4 meses disminuye la densidad de efemerópteros y quironomidos y la de coleópteros y notonéctidos algo menos si bien ninguna población desaparece totalmente (MIURA y TAKAHASHI 1975 y 1976).

RODRIGUES 1982 en GIJSWIJT, 1984 ha estudiado la susceptibilidad de varias especies sometidas a una suspensión de 1 mg/l de DFB durante treinta minutos y tras pasadas posteriormente a agua limpia. Ha observado que unas especies de efemerópteros son sensibles al producto y que otros efemerópteros, un plecóptero y un tricóptero no lo son. Una dosis de 700 ug/l de DFB durante 15 minutos provoca, sobre todo a los 4 días del tratamiento, un gran aumento de la deriva de los simúlidos (MCKAGUE & PRIDMORE, 1978). Con el mismo tiempo de aplicación y la misma dosis se observa que, a los trece días del tratamiento (Anónimo 1978 en GIJSWIJT, 1984) quedan menos efemerópteros que al principio mientras que los coleópteros no son afectados. Utilizando, durante 15 minutos, 1000 ug/l de DFB, pero estudiando el efecto del producto a los siete días el mismo autor no detecta efectos en los efemerópteros. De todos modos GIJSWIJT (1984) no explica en que consiste la presencia o ausencia de efectos del DFB en el bentos.

En una fumigación para controlar los simúlidos con DFB se ha aplicado 1.25 mg/l durante una hora y se ha detectado que a las dos semanas del tratamiento desaparecen gran parte de los invertebrados. Desde el momento en que el DFB induce un gran crecimiento en la población de dípteros incluyendo los simúlidos, son necesarias aplicaciones frecuentes del insecticida, (SAKATE y YASUNO; 1987).

Anteriormente y tras revisar la bibliografía existente, efectuamos un ensayo inicial vertiendo el DFB en un río y observando la evolución de la comunidad béntica durante dos meses. Pocos días después del vertido, la densidad de la comunidad disminuyó mucho, volviendo a aumentar días más tarde con lo cual supusimos la aparición del efecto

inhibidor de la muda del DFB (SAINZ DE LOS TERREROS y GARCIA DE JALON, 1988).

Un año más tarde, realizamos el presente estudio con el objeto de determinar si la recuperación aparente de la comunidad es estable o no a los tres meses del vertido y si las variaciones detectadas en los parámetros analizados son atribuibles al efecto del DFB o a la propia estructura de la comunidad bentónica. Vertimos el DFB al río en una dosis bastante menor que las utilizadas en las experiencias de la bibliografía revisada y con un tiempo de aplicación mayor observando sus efectos durante un tiempo suficientemente largo.

## METODOLOGÍA Y ZONA DE ESTUDIO

Para estudiar los efectos del diflubenzurón en las comunidades bénticas fluviales se ha vertido el producto en un río pequeño y se han comparado los organismos del bentos de aguas arriba del punto de vertido con los de aguas abajo; el día anterior al vertido del DFB y una serie de días más tarde.

El río escogido es el río Aulencia, situado en el término municipal de Villanueva del Pardillo, en la provincia de Madrid (centro de España). El río Aulencia es un afluente del Guadarrama que, a su vez es un afluente del río Tajo. En el Aulencia están localizadas las dos estaciones de muestreo en un tramo de 4 metros de anchura media y 35 centímetros de profundidad media que está a unos ocho kilómetros aguas abajo de la presa del embalse de Valmayor. La estación de referencia, estación A, está situada pocos metros antes del punto de vertido del insecticida, y la estación que sufre el impacto del DFB, estación B, se encuentra inmediatamente después del punto de vertido.

En ambas estaciones de muestreo se encuentran las macrófitas *Ranunculus* sp., *Potamogeton crispus*, y *Ceratophyllum demersum*. El lecho del río es de arena con abundantes piedras dispersas y hay pequeños saltos de agua cada 10-20 metros.

**Cuadro 1. Evolución de los parámetros de la comunidad bentónica (densidad, biomasa, diversidad, de taxones y grupos tróficos) desde el día anterior al vertido (15-III-86) hasta tres meses después (9-VI-1986).**

Fecha (1986)	15-III		17-III		19-III		26-III		8-IV		11-V		9-VI	
Caudal aproximado (L/sg)	93		79		55		25		27		16		30	
Número de días después de aplicar el DFB			1		3		10		23		55		84	
Estaciones	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Densidad (ind/m <sup>2</sup> )	x: 2858	3670	2838*	1394	2006	1087	2413	2745	2452***	377	4915	1992	4895	2808
	o: 1582	2746	1477	801	868	400	1449	1873	1243	169	3926	2290	2896	1985
Biomasa (g/m <sup>2</sup> )	x: 2.90	4.10	2.43*	0.91	1.51	1.76	1.54	2.89	2.34	0.40	2.97	1.02	3.27***	0.97
	o: 1.53	4.95	1.52	0.93	1.68	1.35	0.52	2.2	1.41	0.18	2.20	0.90	1.38	0.90
Diversidad (Shannon-Weaver)	x: 2.59	2.75	2.83*	2.5	2.6	2.79	2.54	2.71	2.66	2.94	2.87	2.47	3.05	2.64
	o: 0.33	0.46	0.27	0.25	0.45	0.31	0.38	0.29	0.31	0.35	0.42	0.48	0.84	0.25
Taxones/0.1m <sup>2</sup>	x: 15.2	16.5	18.8	11.8	14.3	12.5	14.3	18	14.7	12	19.4	12	25.2***	14.6
	o: 6.4	1.5	4.1	3.4	3.0	3.2	3.2	6.1	2.7	2.1	2.4	6	3.6	6.8
Taxones m <sup>2</sup>	31	26	31	22	24	20	22	31	27	23	32	27	34	33
Biomasa de colectores	2.18	3.3	0.9	0.56	1.11	0.93	1.11	1.34	1.91**	0.14	2.2*	0.61	1.39	0.41
Biomasa de predadores	0.69	0.61	0.66	0.29	0.32	0.80	0.40	1.29	0.36	0.19	1.26	0.41	1.62	0.50
Biomasa de fitófagos	0.07	0.15	0.31	0.06	0.04	0.02	0.01	0.24	0.06	0.04	0.07	0.05	0.14	0.06

\* : diferencia significativa entre A y B según la t de Student, para p = 0.1

\*\* : diferencia significativa entre A y B según la t de Student, para p = 0.05

\*\*\* : diferencia significativa entre A y B según la t de Student, para p = 0.02

El DFB utilizado es el Dimilín 25 WP. Se ha arrojado al río una cantidad constante de dimilín previamente disuelto en agua durante dos horas empleándose un total de 165 gramos de DFB. Como el caudal del río en el momento del vertido (16 de marzo de 1986) es de 86 l/sg, resulta una concentración aproximada de DFB de 265 µg/l durante dos horas. Recordamos que la dosis recomendada para la lucha contra plagas forestales (ROBREDO, 1980) es de 45 g/Ha (=4.5 mg/m<sup>2</sup>) a 67 g/Ha (=6.7 mg/m<sup>2</sup>) si se utiliza DIMILIN 45 ULV; y 75 g/Ha (=7.5 mg/m<sup>2</sup>) en el caso de emplear DIMILIN 25 WP.

Para tomar las muestras del bentos se ha utilizado un cilindro muestreador de 0,1 m<sup>2</sup> de base, con un orificio frontal cubierto por una malla de 2 mm de luz por donde entra el agua pero no pueden pasar los organismos que queden fuera del cilindro, y con

una abertura posterior que se prolonga en un embudo de malla fina - 0.2 mm de luz - que termina en un bote adonde, removiendo las piedras incluidas en el interior del cilindro, van a parar los organismos del bentos de esa área de 0.1 m<sup>2</sup>. Para cada muestra se toman cuatro cilindros por separado y se calcula la media y la desviación típica.

La biomasa esta calculada en términos de peso seco por superficie. Para ello, después de haber tenido las muestras de macroinvertebrados en una estufa a 60° C durante dieciocho horas, se pesan en una balanza de alta precisión.

Las muestras están tomadas en medio lótico; en los pequeños saltos de agua y en las zonas entre esas pequeñas cascadas.

Las fechas de muestreo escogidas son:

- 15 de Marzo de 1986: el día anterior a arrojar el DFB al río.

**Cuadro 2: Densidades (ind/m<sup>2</sup>) de los taxones más representativos de la comunidad bentónica, desde el día antes de aplicar el DFB (15-III-1986) hasta tres meses después (9-VI-1986).**

Fecha (1986)	15-III		17-III		19-III		26-III		8-IV		10-V		9-IV	
Número de días después de aplicar el DFB			1		3		10		23		55		84	
Estación de muestreo	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Oligochaeta	100	113	44	74	23	55	20	165	17	27	36	124	60	126
Baetis rhodani	388	173	454*	304	70	92	460	295	610***	7	245	258	207	38
Habrophlebia fusca	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	6	2	65	6
Caenis luctuosa	84	33	63	228	26	30	6	45	12	2	74	26	335	110
Calopteryx sp.	14	11	12	4	0	10	0	17	2	12	2	0	20	2
Onychogomphus forcipatus	6	8	4	6	3	25	3	7	0	2	16	4	15	10
Elmis sp.	16	8	24**	0	10*	0	6	20	7	5	20*	4	30	*2
Rhyacophila munda	18	28	24	6	10	12	20	10	17	0	38	14	17	2
Chimarra marginata	440	935	160	194	70	177	90	140	545	22	374	40	67**	18
Hydropsyche lobata	46	183	134	18	40	57	30	62	145	10	94	14	17	6
Hydropsyche bulbifera	4	15	14	0	3	10	0	12	0	0	4	0	12	16
Setodes argentipunctellus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	327	122
Chironomidae	1420	1893	1842**	778	1296***	607	1693	1825	907***	222	2486	912	1167	1660

\* : diferencia significativa entre A y B, según la t de Student para  $p = 0.1$

\*\* : diferencia significativa entre A y B, según la t de Student para  $p = 0.05$

\*\*\* : diferencia significativa entre A y B, según la t de Student para  $p = 0.02$  en los taxones *Baetis rhodani*, *Elmis sp.*, *Chimarra*

- 17 de Marzo de 1986: un día después.
- 19 de Marzo de 1986: tres días después.
- 26 de Marzo de 1986: diez días después.
- 8 de Abril de 1986: cincuenta y cinco días (dos meses) después.
- 9 de Junio de 1986: ochenta y cuatro días (tres meses) después.

## RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los muestreos del río Aulencia se indican en los cuadros 1 y 2 y en las figuras 1, 2, 3, y 4. Para determinar si los parámetros estudiados tienen valores significativamente diferentes entre la estación por donde pasa el DFB (estación B) y la estación situada aguas arriba del punto de vertido (estación A), hallamos la t de Student, que determina si la diferencia entre las medias de la distribución de valores de cada estación es signifi-

cativamente diferente (Parker, 1981). La aplicamos para los parámetros presentados en el cuadro 1, y en el cuadro 2, para los taxones *Baetis spp.*, *Chironomidae*, *Elmis sp.* y *Chimarra marginata*.

En la estación control (A), tanto el día anterior como el día posterior al vertido del DFB, la densidad de la comunidad bentónica es la misma y su biomasa parecida (Cuadro 1), aunque hay taxones cuya densidad tras el vertido disminuye, como ocurre con *Chimarra marginata* y en menor grado con *Caenis luctuosa* y *Oligochaeta* (cuadro 2). Otros, *Hydropsyche spp.*, *Chironomidae* y *Baetis spp.*, (la mayoría son *Baetis rhodani*) aumentan su número. Por donde ha pasado el insecticida, en la estación B, se aprecia que la densidad y la biomasa disminuyen claramente; sin embargo, el número de taxones y la diversidad apenas disminuyen. Los taxones cuya densidad, desciende apreciable-

mente son: *Chimarra marginata*, *Baetis spp.*, *Hydropsyche spp.*, *Rhyacophila munda*, *Elmis sp.*, *Calopteryx sp.*, y Chironomidae. Los oligoquetos no parecen ser afectados y *Onychogomphus forcipatus* muestra una densidad semejante. Hay un taxón, *Caenis luctuosa*, cuyos individuos son mucho más abundantes el día siguiente al vertido que el día anterior.

Tres días después de haber arrojado el DFB, se observa que, en la estación control, el número de organismos es más bajo que el día anterior al vertido, e igualmente ocurre con la biomasa. En esta estación los taxones que mantienen una densidad parecida son *Baetis rhodani* y Chironomidae, pero hay menos individuos de *Chimarra marginata*, *Rhyacophila munda*, *Caenis luctuosa* y Oligochaeta, faltando *Calopteryx sp.* En la estación B, por donde ha pasado el DFB, la disminución en la densidad y biomasa de la comunidad es apreciablemente mayor que la que acabamos de referir en la estación control. *Caenis luctuosa* vuelve a tener la densidad que presentaba el día anterior al vertido desapareciendo la superabundancia que encontrábamos el día posterior al vertido. Las dos especies de *Hydropsyche*, aunque no llegan a ser tan abundantes como antes del vertido, sí que muestran una clara recuperación, e igualmente ocurre con los odonatos *Calopteryx sp.* y *Onychogomphus forcipatus*, que en la estación control casi no aparecen en ese momento. *Rhyacophila munda* y *Baetis spp.*, aunque no llegan a tener la densidad de antes del muestreo, sí son más abundantes que el día siguiente al vertido.

A los diez días del vertido, en la estación control la densidad es algo menor y la biomasa también es más pequeña. Por donde ha pasado el DFB la comunidad bentónica se va remontando aunque sin alcanzar la densidad y biomasa iniciales. Los quironómidos presentan la misma densidad que antes del vertido; otros taxones, como *Baetis rhodani*, Lumbriculidae, (oligoquetas) *Elmis sp.*, *Caenis luctuosa* y *Calopteryx spp.*, incluso la superan; y respecto a los tri-

cópteros *Chimarra marginata* e *Hydropsyche lobata*, son menos abundantes, tanto en B como en A. La comunidad béntica parece volver a su estado inicial porque, aunque las proporciones de los distintos taxones no son las mismas, la densidad, biomasa, diversidad y número de taxones en la estación se van aproximando a los valores obtenidos el día anterior al vertido (cuadro 1).

En la estación control, la densidad, biomasa y diversidad de la comunidad béntica es prácticamente igual antes del vertido que veintitres días (casi un mes) más tarde, aunque la distribución numérica de sus taxones no es la misma -hay muchos menos lumbricúlidos y *Caenis luctuosa*, menos quironómidos, y más *Baetis spp.*, *Chimarra marginata* e *Hydropsyche lobata*. En cambio, por donde ha pasado el DFB, en el muestreo a los veintitres días tras su aplicación, la densidad y la biomasa son muy pequeñas mientras que la diversidad se mantiene alta. Todos los taxones aparecen en bajo número siendo ellos más patentes, respecto a la situación inicial, en *Baetis rhodani*, *Rhyacophila munda*, *Chimarra marginata*, *Hydropsyche lobata*, *Caenis luctuosa* y Chironomidae. Los únicos organismos que aparecen más en la estación B que en la A son *Calopteryx spp.* y Oligochaeta.

El número de quironómidos y sobre todo el de bétidos es abundante en la estación B al transcurrir dos meses del vertido aunque quedan menos predadores que los esperados y en general hay menos taxones. La densidad y biomasa, aunque han aumentado respecto al mes anterior, no llegan todavía a alcanzar los valores de densidad y biomasa de la estación control.

Un nuevo retroceso se produce a los tres meses de haber pasado el DFB por el río. Hay muy pocos bétidos, *Rhyacophila munda*, *Hydropsyche lobata* y *Calopteryx spp.* Los individuos de los diferentes taxones se encuentran muy dispersos y la biomasa total es baja. Es la época en que aparecen en número apreciable *Habroplhebia fusca* y *Setodes argentipunctellus*. Sin embargo, por donde ha pasado el DFB



Fig. 1.- Río Aulencia,, Estación A (Testigo).

hace tres meses (estación B) estos taxones sobre todo *Habroplhebia fusca*, son menos abundantes de lo esperado. Los oligoquetos lumbricúlidos aumentan su número y el efemeróptero *Caenis luctuosa* a pesar de que los otros efemerópteros -los bétidos- son marcadamente sensibles al DFB, no presenta efectos a los tres meses del vertido del DFB. Observando el número de taxones/0.1 m<sup>2</sup> (obtenido a partir de la media de los valores obtenidos en cada muestra) y el número de taxones totales en la reunión de las cuatro muestras tomadas en cada estación cada día de muestreo (Cuadro1) se aprecia que la comunidad béntica en B, aunque contiene el mismo número de taxones que en la estación control, tiene una estructura de la comunidad más dispersa.

## DISCUSIÓN

El diflubenzurón, vertido a un río en una concentración aproximada de 265 ug/l durante dos horas, produce una toxicidad aguda en la comunidad béntica. Este efecto

se ha detectado en la significativa disminución de la densidad y biomasa de la comunidad béntica que aparece al día siguiente al vertido del DFB en el río (figuras 4 y 6). Ese día, la mayoría de los taxones disminuyen su número, salvo los lumbricúlidos y *Onychogomphus forcipatus* que permanecen en densidad parecida, y *Caenis luctuosa* que presenta muchos más individuos.

Entre los tres y diez días después del vertido la comunidad béntica va volviendo a su densidad y biomasa iniciales. Este restablecimiento podrá explicarse por una gran afluencia de organismos de aguas arriba que llegan por deriva a la zona por donde ha pasado el insecticida.

Esta recuperación no es estable ni permanente, ya que antes de que transcurra un mes, desaparecen muchos organismos, quedando pocos *Baetis rhodani*, *Caenis luctuosa*, *Rhycoptera munda*, *Chimarra marginata*, *Hidropsyche lobata* y habiendo también menos quironómidos de los que debiera haber (Cuadro2): se ha producido el efecto característico del diflubenzurón que es la



Fig. 2.- Río Aulencia. Estación B.

inhibición de la muda de los artrópodos. Como cada especie realiza su muda en un momento determinado, la inhibición de la muda se manifiesta antes o después, según el tiempo que transcurra entre el vertido del DFB y el momento en que se produzca alguna de las mudas larvianas del individuo.

Observando la figura 3 vemos que el número de organismos a los 23 días de arrojar el Dimilín (cuando ya se ha producido el efecto de inhibición de la muda) es aún menor que el número de organismos del día siguiente al vertido (que es cuando se detecta la toxicidad inmediata). Si, como hemos supuesto, después de la toxicidad inmediata llegan nuevos organismos por deriva a la zona afectada ocurre, por lo tanto, que a los 23 días, además de desaparecer organismos que ya estaban originariamente en la zona por donde pasa el DFB, han desaparecido también algunos de los organismos llegados posteriormente por deriva. Así mismo, observamos que la comunidad bentónica sigue siendo afectada tiempo después de producirse el vertido (dos y tres meses des-

pués). Es decir, ocurre algo más que el característico efecto de inhibición de la muda de los organismos que han ingerido el DFB en el momento del vertido ya que se siguen observando efectos del DFB tres meses después y en organismos que en el momento del vertido no estaban en la zona afectada. Causas posibles de éstos son:

- que el diflubenzurón permanezca durante un tiempo en el río, de manera que sus efectos sean más duraderos que si hubiera pasado de largo. El Dimilín es adsorbido por las partículas de materia orgánica (SCHAEFER Y DUPRAS, 1976) y así, queda disponible para los desmenuzadores y colectores como así observan Swift *et al.*, (1988a, b).

- que la capacidad de deriva desde aguas arriba se haya agotado tras la deriva que se produce durante los primeros días siguientes al vertido (muestrados de los tres y diez días tras el vertido) y no sea lo suficientemente grande para ocupar todos los hábitats que han quedado desocupados.

- que el diflubenzurón afecte a los huevos de los macroinvertebrados, como prueban

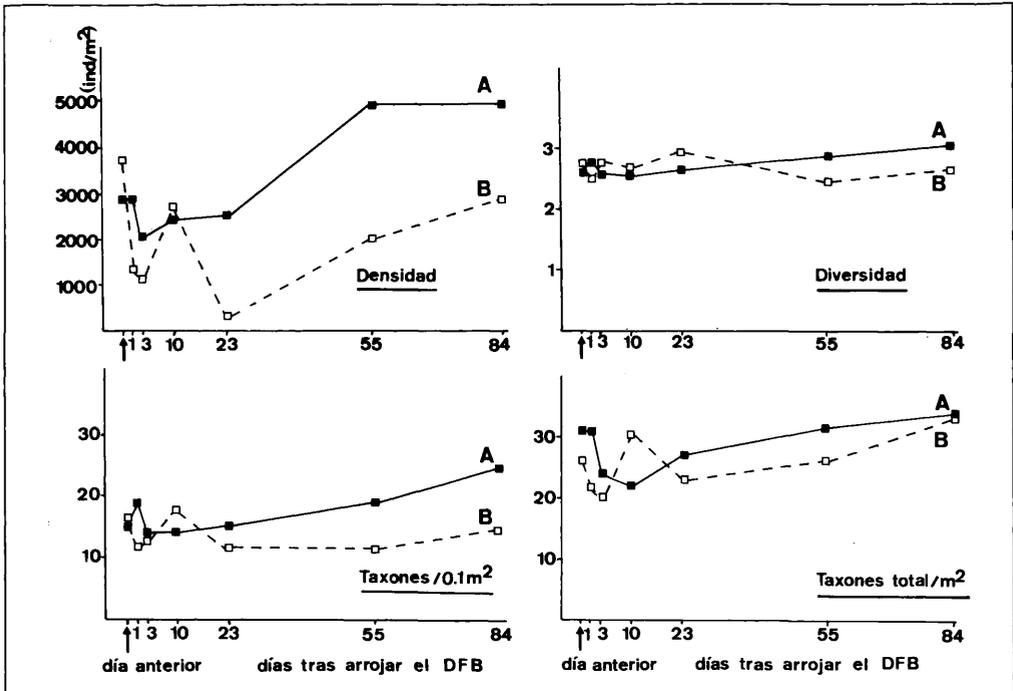


Fig. 3. Evolución de los parámetros poblacionales, en la estación A (testigo) y en la estación B.

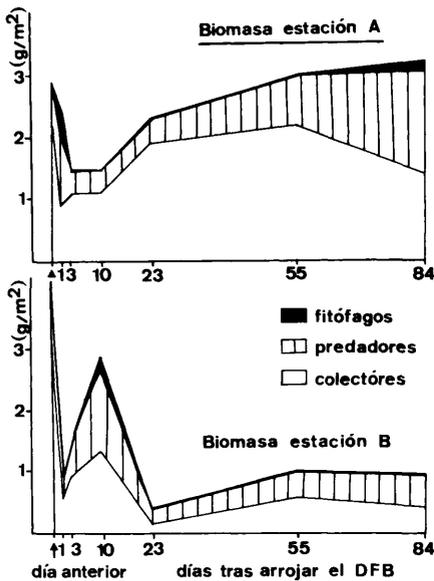


Fig. 4. Biomasa relativa (g/m<sup>2</sup>) de colectores, predadores y fitófagos, en la estación A (testigo) y en la estación B.

MATOLIN y KULDOVA (1982) y PRIMPIKAR y GEORGHIOU (1982) o a los pequeños estadios iniciales larvarios que no se recogen en el muestreo habitual del bentos porque habitan en el medio hiporreico o porque son tan pequeños que no se atrapan en las redes. Ello explicaría el efecto del DFB en *Hadrophlebia fusca* y en *Setodes argenti-puntellus*, especies que no aparecen el día anterior al vertido y que, sin embargo, tienen menor densidad que la estación B que en la A tres meses después de haber sido arrojado el DFB.

Los taxones más afectados por el DFB arrojado al río son:

- *Baetis* spp. (*Baetis rhodani*, *B. fuscatus* y *B. atrebatinus*) (figura 5b). Los bétidos reflejan claramente la toxicidad inmediata, posterior recuperación y, antes de que haya pasado un mes desde el día del vertido, desaparición en masa. Luego vuelven a recuperarse y, antes de que pasen tres meses, otra vez vuelven a sufrir mortalidad por inhibición de la muda debida al DFB.

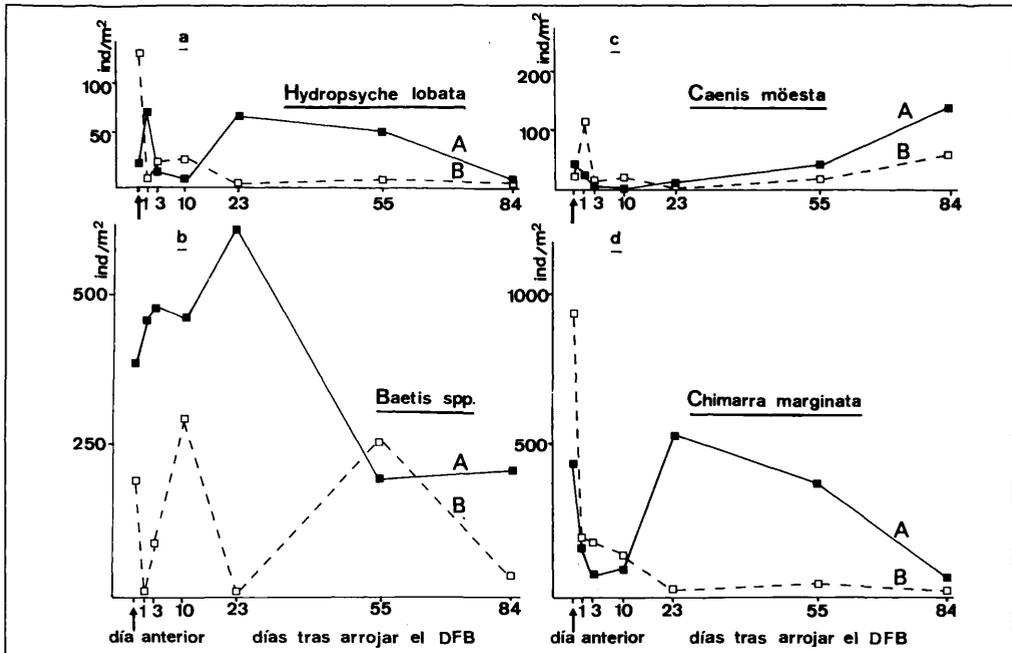


Fig. 5. Densidad (ind/m<sup>2</sup>), en la estación A (testigo) y en la estación B, de *Hydropsyche lobata* (a), *Baetis* spp., (b), *Caenis moesta* (c) y *Chimarra marginata* (d).

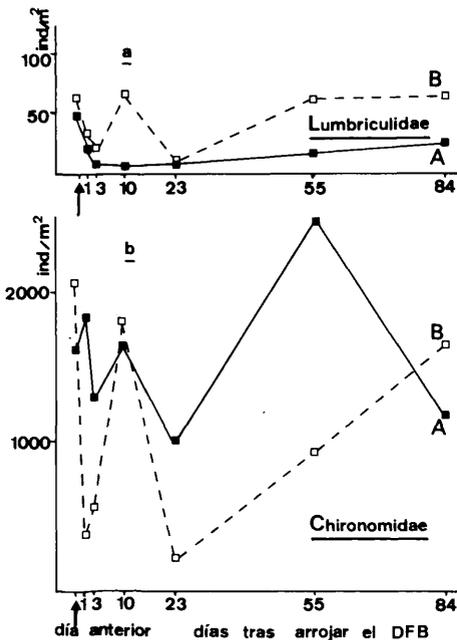


Fig. 6. Densidad (ind/m<sup>2</sup>), en la estación testigo y en la estación B, de Lumbriculidae (a) y Chironomidae (b)

- los quironómidos (figura 5b). Inicialmente les ocurre lo mismo que a los bétidos pero a partir de los veintitrés días comienzan a recuperarse y a los tres meses su densidad es superior a la que se obtiene en la estación control.

- *Chimarra marginata* (figura 5d), que es afectada en el momento del vertido y ya no vuelve a recuperar su densidad inicial.

- *Hydropsyche lobata*, *Rhyacophila munda* e *Hydropsyche bulbifera* (cuadro 2 y figura 5c), siguen la dinámica general de desaparición, recuperación y posterior desaparición de individuos al mes del vertido. A los tres meses vuelve a aparecer *Hydropsyche bulbifera* mientras que *Rhyacophila munda* e *Hydropsyche lobata* escasean en la zona por donde ha pasado el insecticida.

- *Elmis* sp., (Cuadro 2). Estos fitófagos, aunque poco numerosos en el río, a los dos y tres meses del vertido aparecen menos de lo esperado.

- *Habrophlebia fusca* y *Setodes argenti-punctellus*, como ya se ha comentado.

- *Caenis luctuosa* (figura 5c). Los individuos de este género no siguen la dinámica de los otros efemerópteros de la zona. El día siguiente al vertido aumenta su número para descender rápidamente a los tres días y luego fluctúa pero sin volver a la densidad del día después del vertido.

Es decir que, en este estudio, los taxones más sensible al DFB son: *Baetis spp.*, (especialmente *Baetis rhodani* que es el más abundante), Chironomidae, *Chimarra marginata*, *Rhyacophila munda*, *Hydropsyche lobata*, *Hydropsyche bulbifera*, *Elmis sp.*, *Habrophlebia fusca* y *Setodes argenti-punctellus*. Los oligoquetos, al ver disminuida su competencia, aumentan su número.

## RECOMENDACIONES

Las conclusiones de este trabajo sugieren el interés de considerar los siguientes aspectos en el caso de efectuar un nuevo estudio sobre los efectos de DFB en la comunidad bentónica.

En el caso de efectuar un nuevo vertido experimental de DFB:

- Disminuir el tiempo de vertido o la dosis del vertido, ya que, presumiblemente, el DFB afectará al bentos en dosis menores que la experimentada en este trabajo.
- Prolongar la toma de muestras más de

tres meses para detectar la duración total de los efectos del DFB y estimar cuanto tiempo les cuesta a las poblaciones bentónicas recuperarse.

- Hacer un seguimiento de la deriva de los organismos de aguas arriba para estudiar la recolonización en las zonas tratadas con el diflubenzurón. Y ello para relacionar la deriva con el hecho de que haya más organismos a los 10 días del vertido que al día siguiente, y asimismo que, aunque al más del vertido se encuentran muy pocos organismo por la zona por donde ha pasado el DFB, a los dos meses la densidad bentónica ha vuelto a aumentar.

- Determinar analíticamente si hay restos de diflubenzurón en la materia orgánica del medio acuático.

- Aumentar el número de estaciones de muestreo aguas abajo del punto del vertido, para ver si el DFB afecta a los organismos situados a cierta distancia.

- Estudiar los efectos del DFB en la fauna del medio hiporreico.

Finalmente y teniendo en cuenta las recomendaciones anteriores, lo más práctico sería estudiar los posibles efectos del Dimilín en el bentos de los ríos afectados por el pesticida, aprovechando las fumigaciones forestales aplicadas en las dosis habituales; con lo cual los resultados estarían más relacionados con la realidad.

## ABSTRACT

SAINZ DE LOS TERREROS, M., Y GARCIA DE JALON, D. (1991): Estudio de las alteraciones producidas por un vertido experimental de diflubenzuron en los macroinvertebrados de un río. *Bol. San. Veg. Plagas*, 17 (2): 299 - 312.

The effects of diflubenzuron (DFB) on the community of benthic macroinvertebrates of the River Aulencia (Tajo basin) subjected to a high concentration of DFB (265 ug/l) for two hours were studied.

The effects of this insecticide were evaluated by analysis of the composition of the community and on the basis of quantitative parameters of the community as biomass, density, density of fauna, diversity and trophic structure.

One day after exposure to DFB, there was an intense toxic effect observed on the community. The biomass decreased into its fourth part and the density halves; only *Caenis luctuosa* (Ephemeroptera) increases its population. Later it follows a recovery of the community due to the fluvial drift. After 23 days, the benthos presented a second impact due to the inhibition of macroinvertebrate molting. Three months after the exposure to DFB, the community was not fully recovered.

The species which were more sensitive to DFB in this study, were the aquatic insects and specially *Baetis* spp. (Ephemeroptera), *Chimarra marginata*, *Hydropsyche lobata*, *Rhyacophila* sp. (Trichoptera) and *Chironomidae* (Diptera). *Caenis lucuosa* resisted the first toxic effect. The lumbriculids (Annelida) were not affected and increased his density.

**Key words:** diflubenzuron, insecticide, benthos, macroinvertebrates, streams.

## REFERENCIAS

- ALI, A. & LORD, J. 1980. Impact of experimental insect growth regulators on some nontarget aquatic invertebrates. *Mosquito News*. **40** (4).
- COUDRIET, D. L. & SEAVY, R. S. 1979. Diflubenzuron: laboratory evaluation against three lepidopteran pests of vegetables. *Journal Georgia Entomol. Soc.* **14** (4).
- DUPHAR, B. V. 1985. DIMILIN. An insecticide interfering with chitin deposition. *Technical information*. 9 ed.
- GIJSWIJT, M. J. 1984. *Effects of Diflubenzuron on freshwater non-target organisms*. Property of Duphar B. V.
- GROSSCURT, A. C. 1978. Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and an evaluation of its practical possibilities. *Pesticides Sciences*. **9**: 373-386.
- HANSEN, S. H. & GARTON, R. R. 1982. The effects of Diflubenzuron on a complex laboratory stream community. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **11**: 1-10.
- IVIE, G. W., BULL, D. L. & VEECH, J. A. 1980. Fate of Diflubenzuron in water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **28** (1) 90-94.
- LACEY, L. A. & MULLA, M. S. 1978. Factors affecting the activity of Diflubenzuron against *Simulium larvae* (Diptera: simuliidae). *Mosquito News*. **38** (2) 264-268.
- MATOLIN, S. & KULDOVA, J. 1982. Effects of diflubenzuron and dimatif on eggs of codling moth. *Cydia pomonella* (Lepidoptera, Tortricidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*. **79**: 267-273.
- MCKAGUE A. B. & PRIDMORE, R. B. 1979. Drift response of black fly larvae to Dimilin. *Mosquito News*. **39** (3).
- METCALF, R. L. PO-YUNG LU & BOWLUS, S. 1975. Degradation and environmental fate of 3-(2,6-difluorobenzoyl)-1(4-chlorophenyl)urea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **23**: 356.
- MIURA, T. & TAKAHASHI, R. M. 1974. Insect Developmental Inhibitors. Effects of Candidate Mosquito Control Agents on Nontarget Aquatic Organisms. *Environmental Entomology*. **3** (4) 631-636.
- MIURA, T. & TAKAHASHI, R. M. 1976. Effects of Dimilin on nontarget organisms: repeated utilizations on the same habitats as a mosquito larvicide. Proceedings and papers of the forty-fourth annual conference of the California Mosquito Control Association 25-28 de Enero.
- PARKER, R. E. 1981. *Estadística para biólogos*. Cuadernos de Biología. Ed. Omega.
- REED, T. & BASS, M. H. 1980. Fecal elimination of diflubenzuron by the soybean looper, *J. Georgia Entomol. Soc.* **16** (1). 91-95.
- ROBREDO, F. 1980. Tratamientos masivos con diflubenzurón contra la procesionaria del pino en España. *Boletín del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica*. **6** (2), 141-154.
- ROBREDO, F., LLORENS, J. M., VIVES, J. M., GONZALEZ, C., GRASES, J. M., MONTEAGUADO, E., GAMON, M., BUISMAN, P. Y BACHLECHNER, C. 1989. Degradación del diflubenzurón y triflumurón en dos tipos de suelo forestales representativos del área mediterránea. *Bol. San. Veg. Plagas*, **4**: 323-331.
- SAINZ DE LOS TERREROS, M. Y GARCIA DE JALON, D. 1988. Efectos del diflubenzuron en la comunidad de macroinvertebrados bentónicos de un río. En Estudios sobre los tratamientos forestales con diflubenzurón y su incidencia sobre la fauna. F. Robredo, ICONA. *Serie Técnica*-**4**. 119-137.
- SATAKE, K. N. & YASUNO, M. 1978. The effects of diflubenzuron on invertebrates and fishes in a river. *Jpn. J. Sanit. Zool.* **38** (4). 303-316.
- SAXENA, S. C. & KUMAR, V. 1981. Blockage in chitin biosynthetic chain in the grasshopper *Chrotogonus trachipterus* treated with Diflubenzuron & Penfluron. *Indian Journal of Experimental Biology*. **19**. 1199-1200.
- SCHAEFER, C. H. & DUPRAS, E. F. 1977. Residues of Diflubenzuron in Pasture Soil, Vegetation and Water following Aerial Applications. *Agricultural and Food Chemistry*, **25** (5), 1026-1030.
- SORIA, S., ABOS, F. Y MARTIN, E. 1986. Influencia de los tratamientos con diflubenzurón ODC 45% sobre

- pinares en las poblaciones de *Graellsia isabellae* y reseña de su biología. *Bol. San. Veg. Plagas.* **12**, 29-50.
- STONER, A. & WILSON, W. T. 1982. Effects of long-term feeding of low doses in sugar-cake or sucrose syrup on honey bees in standard size field colonies: diflubenzuron (Dimilin). *America Bee Journal.* **122** (8), 579-582.
- SWIFT, M. C., CUMMINS, K. W. & SMUCKER, R. A. 1988a. Effects of Dimilin on stream leaf-litter processing rates. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **23**, 1255-1260.
- SWIFT, M. X., SMUCKER, R. A. & CUMMINS, K. W. 1988b. Effects of Dimilin on freshwater litter decomposition. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **7**, 161-166.

(Aceptado para su publicación: 5 Diciembre 1990)