



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y
MATEMATICAS**

Departamento de Ciencias Químicas y Ambientales

Modelización De La Estructura-Toxicidad De Diversos Pesticidas
Utilizando Metodos Qsar Y Quimiometricos

Tesis de Grado previa a la obtención del Título de:
MAGÍSTER EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presentado por:

Blgo. Luis Fernando Cárdenas Calle

Director:

Ph.D. David Matamoros

Guayaquil – Ecuador

2013

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN:

Ph.D. David Matamoros
DIRECTOR DEL ICQA

Ph.D. Paola Almeida
COORDINADORA DE LA MAESTRÍA

Ph.D. David Matamoros
DIRECTOR DE TESIS

Ph.D. Luis Domínguez
VOCAL PRINCIPAL

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de este Trabajo Final de Graduación, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral."

Blgo. Luis Fernando Cárdenas Calle

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se empleó la metodología QSAR apoyada de técnicas Quimiométricas para establecer la relación estructura-actividad de sustancias químicas.

Se elaboró una base de datos de 192 moléculas de pesticidas (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides) y la toxicidad de *Daphnia magna* expresada en Concentración Efectiva 50 (EC₅₀).⁹

Las estructuras moleculares de los pesticidas fueron digitalizadas y optimizadas en el software HYPERCHEM. Las moléculas fueron llevadas al software DRAGON en donde se calcularon 1216 descriptores moleculares para cada pesticida. La dimensión de la base de datos analizada es de 216.192 datos.

Los valores de toxicidad fueron divididos en tres clases asignadas según la actividad de la molécula; los de la clase 1 son moléculas de baja toxicidad, clase 2 aquellas moléculas de toxicidad intermedia y los de clase tres moléculas altamente tóxicas.

Para cumplir el objetivo principal de la investigación se utilizó el método de clasificación KNN, con el cual evaluamos la relación existente entre la estructura molecular y la toxicidad de los pesticidas con las clases pre-asignadas.

KNN genera un modelo que está integrado por 8 descriptores moleculares óptimos seleccionados mediante Algoritmos Genéticos y su calidad de predicción es del 72%.

El algoritmo resulta ser más sensible para las moléculas que tienen mayor toxicidad (clase 3) al tener un NER del 75%. Y las clases que resultan menos sensibles son la clase 1 y 2 con un NER del 69% y 66% respectivamente.

Los centroides de las clases, muestran que los descriptores moleculares 6 (CATS2D_04_LL) y 7 (CATS2D_05_LL); son aquellos que separan y diferencian las tres clases de actividad biológica.

En la clase 3, aquellas moléculas que tienen mayor actividad, las variables 6 (CATS2D_04_LL) y 7 (CATS2D_05_LL) presentan valores intermedios, lo cual indica la presencia de una actividad lipofílica media en las moléculas de los pesticidas.

El Algoritmo Genético reduce la dimensionalidad de la base de datos ya que al iniciar el análisis se tenían 1216 descriptores moleculares de los cuales solo 8 describen la actividad biológica (toxicidad) de las moléculas de pesticidas.

El NER= 0,72 encontrado con el método KNN presenta una buena capacidad predictiva a pesar de ser un modelo que contiene una gran cantidad de moléculas (192) y estas ser de diferente origen químico (organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides).

Por lo tanto el presente modelo nos permite predecir la actividad biológica (toxicidad) definida de nuevas estructuras moleculares de pesticidas.

Palabras clave: QSAR, Quimiometría, Pesticidas, Algoritmo Genético, KNN.

ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN:.....	II
DECLARACIÓN EXPRESA	III
RESUMEN.....	IV
ÍNDICE GENERAL.....	VI
ABREVIATURAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS	X
CAPÍTULO 1	11
INTRODUCCIÓN	11
1.2 Hipótesis.....	15
1.2.1. Hipótesis Nula	15
1.2.2. Hipótesis Alternativa.....	15
1.3. Objetivos	16
1.3.1. Objetivo General	16
1.3.2. Objetivos Específicos:	16
1.4. Alcance de la Tesis	18
1.5. Estructura de la Tesis	20
CAPÍTULO 2: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	22
2.1. Pesticidas	22
2.1.1. Definición:	22
2.1.2. Antecedentes históricos:	22
2.1.3. Estructura química:	25
2.1.3.1. Organoclorados.....	25
2.1.3.2. Inhibidores de la acetilcolinesterasa.....	27
2.1.3.3. Organofosforados	28
2.1.3.4. Carbamatos:.....	30
2.1.3.5. Piretroides:.....	31
2.1.4. Toxicidad	33
2.1.5. Usos.....	33
2.1.6. Efectos sobre el ambiente	35

2.1.6.1. Efectos a corto plazo en el ambiente cercano	35
2.1.6.2. Efectos a largo plazo en el ambiente cercano	36
2.1.6.3. Efectos a largo plazo en el ambiente lejano	37
2.2. Ensayos de Toxicidad	39
2.2.1. Desventajas de los ensayos de toxicidad	43
2.3. Análisis SAR y QSAR.....	46
2.3.1. SAR (Structure-Activity Relationships).....	46
2.3.2. Enfoque de Hansch	49
2.3.3. QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship).....	50
2.4. Descriptores Moleculares en la estrategia QSAR.....	53
2.5. Quimiometría.....	56
CAPÍTULO 3	59
METODOLOGÍA USADA.....	59
3.1. Métodos de Clasificación	59
3.1.1. Parámetros de validación de la clasificación	61
3.2. Método KNN	64
3.3. Algoritmos Genéticos.....	66
3.4. Obtención de los Datos.....	69
3.5. Digitalización y Optimización de las Moléculas	71
3.6. Cálculo de los Descriptores Moleculares	73
3.7. Normalización de los Datos	74
3.8. Asignación de las clases	76
3.9. Aplicación del Algoritmo Genético	77
CAPÍTULO 4	79
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	79
4.1. Resultados de la Matriz de Confusión	82
CONCLUSIONES	88
RECOMENDACIONES.....	90
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92

ABREVIATURAS

AERU	Unidad de Agricultura y Ambiente de la Universidad Hertfordshire
AG	Algoritmos Genéticos
CENO	Concentración de Efectos
CE _x	Concentración Efectiva
CL50	Concentración Letal 50
CL _x	Concentración Letal
DDT	Diclodifeniltricloroetano
DL50	Dosis Letal 50
EC50	Concentración Efectiva 50
FAO	Organización para la Alimentación y la Agricultura
KNN	K Nearest Neighbors algorithm
Log-P	Coeficiente de partición aceite/agua
MCEO	Menor Concentración que produce Efectos Observables
NEANO	Nivel de Efectos Agudos No Observables
NER	Non-Error Rate
PPDB	Pesticide Properties Data Base
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationships
SAR	Structure-Activity Relationships

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura química del DDT	26
Figura 2: Estructura química del Malatión	28
Figura 3: Estructura química del Aldicarb	30
Figura 4: Estructura química del Dimetrin	32
Figura 5: Relación estructura actividad/propiedad (SAR).....	46
Figura 6: Esquema general de trabajo en la metodología QSAR	51
Figura 7: Metodología de Clasificación	60
Figura 8: Asignación de las clases mediante el método KNN	64
Figura 9: Esquema de la metodología utilizada por los Algoritmos Genéticos	67
Figura 10: Esquema de la generación de la base de datos.....	71
Figura 11: Estructura tridimensional de la molécula de DDT digitalizada en HYPERCHEM.....	71
Figura 12: Relación entre número de descriptores considerados en la clasificación KNN y la calidad del modelo en predicción	79
Figura13: Centroides de las clases asignadas.....	85
Figura 14: Relación entre la estructura molecular y la toxicidad.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de los pesticidas en relación a su toxicidad.....	33
Tabla 2: Matriz de confusión.....	62
Tabla 3: Secciones de la base de datos PPDB.....	70
Tabla 5: Parámetros de las clases asignadas a los objetos.....	76
Tabla 6: Parámetros de programación para el Algoritmo Genético.....	77
Tabla 7: Matriz de confusión del método KNN obtenido.....	82
Tabla 8: NER obtenido para cada una de las clases.....	83

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El uso de pesticidas es muy importante para el mantenimiento de los sistemas agrícolas, no solo han contribuido al aumento de la producción; sino que además han sido fundamentales en avances de salud pública con la supresión y control de vectores.

Los pesticidas son productos cuya función es eliminar los daños que causan los organismos plaga a los cultivos agrícolas garantizando así una alta productividad.

A pesar de que estas moléculas cuando se aplican, tienen organismos objetivo como su destino final, el 99% de los pesticidas que se aplican van al aire, agua y suelo es decir, sólo el 1% llega a su destino.

Este hallazgo es inquietante debido a que la población mundial crece lo que significa que el uso de pesticidas aumentará para satisfacer las necesidades mundiales de alimentos; debido a esto los recursos naturales se mantendrán bajo una intensa amenaza de estas moléculas.

Para determinar la toxicidad de los pesticidas se han estudiado y realizado diversos ensayos en animales, la ventaja fundamental de estos ensayos es su realización en condiciones rigurosas y controladas de laboratorio.

Estas condiciones permiten establecer de manera cuantitativa la relación entre la exposición (dosis) y su efecto (respuesta).

Estos estudios se utilizan como un paso previo a la comercialización de nuevos pesticidas o de aquellos que ya se encuentran en el mercado, esta información toxicológica permite establecer los efectos de los pesticidas en el ambiente, en la vida humana y animal.

Dentro de las desventajas de realizar estas pruebas es la detección de los efectos en dosis bajas, esto requiere del uso de un número elevado de ejemplares lo que convierte al proceso inviable económicamente.

Esto se debe a que las condiciones que requieren los animales en laboratorio son muy rigurosas y el tiempo que necesitan los ensayos son demasiado extensos.

Debido a las limitaciones de los ensayos de toxicidad se han desarrollado nuevos métodos que permiten reducir el número de animales utilizados, ahorrar tiempo y reducir el costo de las pruebas.

Dentro de estos métodos tenemos las técnicas QSAR, esta metodología tiene como objetivo principal el construir modelos matemáticos que relacionen la estructura química de las moléculas y la actividad biológica de una serie de compuestos análogos.

Esta metodología se fundamenta en que los complejos fenómenos bioquímicas que afectan a la toxicidad pueden ser descritos en términos matemáticos y químicos.

Por lo cual el objetivo principal de la presente investigación es determinar la existencia de una relación estadística significativa entre la estructura molecular de los diferentes pesticidas y su respectiva respuesta biológica (toxicidad).

Para alcanzar el objetivo principal de la investigación contamos con una base de datos de pesticidas de la Universidad de Hertfordshire de Inglaterra, de donde seleccionamos 192 pesticidas.

De esta base de datos obtuvimos el gráfico molecular del pesticida y las propiedades ecotoxicológicas de *Daphnia magna* de donde seleccionamos el valor de la EC_{50} .

Mediante el software HYPERCHEM digitalizamos las 192 estructuras moleculares de los pesticidas, luego de tener las moléculas digitalizadas calculamos los descriptores moleculares por medio del software DRAGON.

Esto nos permite elaborar una base de datos de los descriptores moleculares y la respuesta biológica de *Daphnia magna*; el tamaño de la base de datos es de 216.192 datos.

Debido a la gran cantidad de datos a ser analizados tenemos que utilizar métodos estadísticos multivariantes (Quimiometría), apoyados de técnicas de selección de variables óptimas como los Algoritmos Genéticos.

Estos métodos nos permitieron encontrar un modelo que describe la relación entre la estructura molecular de los pesticidas y su respectiva toxicidad en *Daphnia magna*, luego de encontrar y validar el modelo podremos predecir nuevas estructuras químicas de pesticidas y su respectiva toxicidad en *Daphnia magna*.

1.2 Hipótesis

Las hipótesis derivan del objetivo principal de nuestra investigación que es determinar la existencia de una relación estadísticamente significativa entre la estructura molecular de los diferentes pesticidas y su respectiva respuesta biológica

1.2.1. Hipótesis Nula

H_0 = No existe una relación estadística significativa entre la estructura molecular y la actividad biológica de los diferentes pesticidas analizados.

1.2.2. Hipótesis Alternativa

H_1 = existe una relación estadística significativa entre la estructura molecular y la actividad biológica de los diferentes pesticidas analizados.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Determinar una relación estadísticamente significativa entre la estructura molecular y la toxicidad de diversos pesticidas utilizando métodos QSAR y quimiométricos.

El modelo encontrado nos permite establecer nuevas estructuras químicas de pesticidas y determinar su respectiva toxicidad en los organismos. Esto en términos generales significa ahorrar tiempo, recursos económicos y reducir la presión sobre los animales utilizados en los ensayos de toxicidad.

Además el modelo es una herramienta de evaluación que permite encontrar la toxicidad de un nuevo pesticida que ingrese al mercado ecuatoriano mediante su estructura molecular.

1.3.2. Objetivos Específicos:

1. Elaborar una base de datos de las estructuras moleculares de los pesticidas a ser evaluados.
2. Aplicar diferentes métodos quimiométricos y QSAR para modelar la estructura-toxicidad de los pesticidas estudiados.

3. Encontrar un modelo que relacione la estructura molecular de los pesticidas y su respectiva toxicidad en los organismos.

4. Validar el modelo encontrado el cual nos permitirá predecir nuevas estructuras moleculares de pesticidas y su respectiva toxicidad.

1.4. Alcance de la Tesis

La investigación ha sido posible desarrollarla debido a que se cuenta con una amplia bibliografía que nos permite sustentar la investigación.

Además contamos con los Software necesarios para realizar la modelación de la estructura-actividad de los pesticidas estudiados.

Los datos utilizados en la investigación son obtenidos de una base de datos externa ya que no contamos con un laboratorio que nos permita realizar ensayos toxicológicos en organismos de prueba.

Se han aplicado los métodos de clasificación ya que son apropiados para modelar varias respuestas en los métodos QSAR, como por ejemplo: compuestos que presenten una toxicidad baja, media y alta.

En tanto que los modelos de regresión son más estudiados pero analizan de manera parcial la toxicidad y son utilizados para compuestos químicamente similares.

Por lo expresado anteriormente el trabajo de investigación se limita a encontrar un modelo estadísticamente significativo que relacione la estructura molecular y la respuesta biológica de los pesticidas estudiados.

1.5. Estructura de la Tesis

El trabajo de investigación está organizado en cuatro capítulos:

En el Capítulo 1 se muestra brevemente el tema de investigación y su alcance, el objetivo general, la hipótesis central y la metodología utilizada para cumplir con el desarrollo del trabajo.

El Capítulo 2 presenta el marco conceptual de la investigación. En este capítulo describimos los conceptos teóricos necesarios para fundamentar y limitar el trabajo de investigación.

En el Capítulo 3 describimos de manera específica toda la metodología utilizada para cumplir con el objetivo general de la investigación y desarrollar de manera exitosa el trabajo.

Los Resultados obtenidos de la modelación estructura-toxicidad y la Discusión de resultados de otras investigaciones relacionadas con el trabajo son presentados en el Capítulo 4.

En tanto que las Conclusiones obtenidas en la investigación y las perspectivas que tiene a futuro la investigación son expuestas en la sección de Conclusiones Y

Recomendaciones.

CAPÍTULO 2

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Pesticidas

2.1.1. Definición:

La FAO de las Naciones Unidas establece que un pesticida es una sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal [19].

2.1.2. Antecedentes históricos:

El hombre ha intentado desde la antigüedad controlar por distintos medios los microorganismos, plantas, vertebrados e invertebrados que ponían en riesgo los alimentos cultivados o almacenados, así como la salud de las personas [18].

Uno de los primeros agentes químicos utilizados para este propósito fue el azufre, empleado en China hace tres mil años [18].

En Japón en el siglo XVI, se utilizaba como pesticida el aceite de ballena de baja calidad mezclado con vinagre para controlar las plagas presentes en el cultivo de arroz [18].

Los primeros usos de los derivados de las plantas como insecticidas datan de finales del siglo XVII, cuando se aplicaron extractos acuosos de las hojas de tabaco a los cultivos [18].

Durante el siglo XIX se extrajo por primera vez el piretro de las flores del crisantemo y comenzó a usarse el trióxido de arsénico, como herbicida, y el sulfato de cobre como pesticida para combatir las plagas de los viñedos europeos [18].

En tanto que los pesticidas sintéticos surgen entre 1930 y 1940 como resultado de investigaciones enfocadas al desarrollo de armas químicas utilizadas en la Segunda Guerra Mundial que originalmente fueron probados en insectos [19].

Uno de los primeros compuestos, el diclorodifeniltricloroetano (DDT) fue sintetizado por Zeidler en 1874, y sus propiedades insecticidas fueron descritas por Paul Müller hacia 1939 [19].

El DDT se utilizó por primera vez durante la Segunda Guerra Mundial para proteger a los soldados estadounidenses contra enfermedades transmitidas por vectores y se comercializó en los EE.UU en 1945 [19].

La industrialización, los intereses económicos de los grandes productores de pesticidas, así como la necesidad de controlar químicamente las plagas, favoreció su fabricación y consumo a escala mundial [19].

Tras el fin de la Guerra se produjo una auténtica explosión en el número y variedad de agentes químicos utilizados como pesticidas que se sintetizaron y se utilizaron por primera vez, esto dio paso a la denominada Revolución Verde [19].

Este es el nombre con el que se bautizó en los círculos internacionales al importante incremento de la productividad agrícola, ocurrida entre 1940 y 1970 [19].

Ésta Revolución consistió en utilizar variedades mejoradas de maíz, trigo y otros granos, cultivando una sola especie en un terreno durante todo el año (monocultivo), el cual requiere de la aplicación de grandes cantidades de agua, fertilizantes y pesticidas [1].

Con estas variedades y procedimientos, la producción aumento de dos a cinco veces que con las técnicas y variedades tradicionales de cultivo [1].

El uso de pesticidas no solo ha contribuido con el incremento espectacular de la producción agrícola sino que es directamente responsable de grandes avances en salud pública, como la supresión y control de vectores de enfermedades [1].

A pesar de los avances realizados todavía persiste el riesgo de contraer enfermedades transmitidas por organismos vectores en amplias zonas del mundo [1].

2.1.3. Estructura química:

En general se prefiere clasificar a los pesticidas desde el punto de vista químico, ya que esto permite agruparlos con un criterio uniforme y establecer diversas correlaciones como: estructura-actividad, estructura-toxicidad, estructura-mecanismos de degradación [19].

De acuerdo a su estructura química, los plaguicidas se clasifican en diversas familias: Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos, Quinonas, Triazinas, Anilidas, Piretroides, Cumarinas [19].

Dentro de nuestro estudio hacemos énfasis en 4 grupos de pesticidas los cuales son los organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides. Los cuales se definen a continuación [19].

2.1.3.1. Organoclorados

Los organoclorados son los pesticidas más utilizados en la agricultura, son usados como insecticidas, acaricidas, herbicidas y fungicidas. Estos pesticidas se aplican durante la siembra del algodón, trigo, maíz, frijol, arroz, soya [1].

Además son utilizados en los frutales como la naranja, mango, melón, sandía y piña, así como en las plantaciones de café y caña de azúcar [1].

Su estructura química corresponde a la de los hidrocarburos clorados, lo que les confiere una alta estabilidad física y química, haciéndolos insolubles en agua, no volátiles y altamente solubles en disolventes orgánicos; estas características favorecen su persistencia en el ambiente y su lenta biodegradabilidad [19].

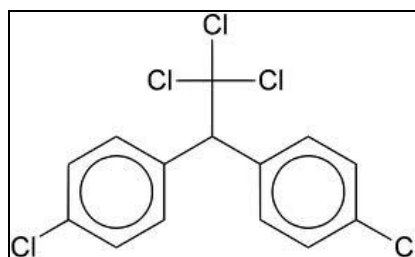


Figura 1: Estructura química del DDT

Los organoclorados modifican el comportamiento eléctrico de las células nerviosas, reduciendo el transporte de los iones potasio, además modifican los canales porosos por donde circulan los iones sodio [1].

De esta forma su apertura se produce rápida y normalmente, pero se dificulta su cierre que tiene lugar más lentamente que en ausencia de este compuesto; por consiguiente interfiere con el transporte activo de sodio hacia el exterior del axón durante la repolarización de las neuronas [18].

La degradación metabólica de los insecticidas organoclorados se da lentamente, debido a la presencia de múltiples átomos de cloro como sustituyentes, muy difíciles de eliminar por mecanismos enzimáticos y a las

estructuras aromáticas complejas que presentan algunos de estos compuestos [18].

El ritmo lento de metabolismo, y la elevada liposolubilidad dan lugar al almacenamiento prolongado de estos compuestos en los tejidos adiposos, del que se movilizan muy lentamente para restaurar el equilibrio entre tejidos y sangre a medida que progresa la transformación metabólica y la excreción [18].

Las propiedades atractivas de los pesticidas organoclorados son también las que han provocado su prohibición en números países, pues constituyen el fundamento de los problemas al ambiente como la persistencia, bioacumulación y biomagnificación [18].

Muchos de estos pesticidas ya no se comercializan en Europa ni Norteamérica, pero su uso persiste en países en vías de desarrollo, donde desempeñan un papel importante como agentes de control de vectores [1].

2.1.3.2. Inhibidores de la acetilcolinesterasa

El mecanismo de acción común de todos los pesticidas de este grupo es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, encargada de la degradación metabólica del neurotransmisor acetilcolina [18].

Estos pesticidas están integrados por dos clases de compuestos: los ésteres del ácido fosfórico o tiofosfórico que reciben el nombre de plaguicidas organofosforados y los ésteres del ácido carbámico o carbamatos [18].

2.1.3.3. Organofosforados

Se sintetizaron por primera vez en Alemania en 1937 y se emplearon como agentes químicos en la Segunda Guerra Mundial; entre estos compuestos se encuentra el somán, tabún y sarín [17].

Los pesticidas organofosforados son ésteres o amidas derivadas del ácido fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico, fosfónico y fosfínico. Su mayor actividad es como insecticida, aunque algunos de ellos presentan actividad nematocida, fungicida y herbicida [17].

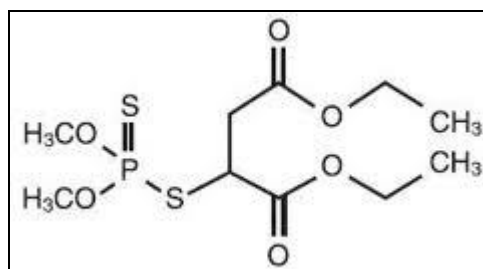


Figura 2: Estructura química del Malatión

Su principal característica es su biodegradabilidad, se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente con relación a los

organoclorados, pero más peligrosos para el hombre debido a su alto grado de toxicidad [17].

Muchos de ellos son sistémicos, es decir, son absorbidos por las plantas e introducidos en el sistema vascular de los vegetales, actuando tanto en los insectos como también sobre las personas que ingieren el alimento [17].

Tienen un espectro de acción más estrecho que los organoclorados, su utilización reduce el peligro de eliminación de otros insectos que puedan ser beneficiosos.

No presentan bioacumulación, su persistencia es baja y son de fácil descomposición a productos no tóxicos. Una desventaja es su toxicidad alta para los vertebrados y seres humanos, que obliga a una manipulación más cuidadosa de estos productos [18].

Presentan problemas especiales debido a que cuando hay combinación entre algunos de ellos se producen diversos efectos como sinergia, potenciación e inhibición de la destoxificación [18].

La toxicidad y la acción insecticida son atribuidas a la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa, enzima que se encuentra en las células nerviosas de los insectos y cuya desactivación paraliza el sistema nervioso [18].

2.1.3.4. Carbamatos:

Los carbamatos son otro grupo de pesticidas que pueden ser de tres tipos principales: los derivados de ésteres carbamatados, usados como insecticidas; los derivados del ácido tiocarbámico, utilizados como fungicidas, y carbamatos que se emplean como herbicidas [18].

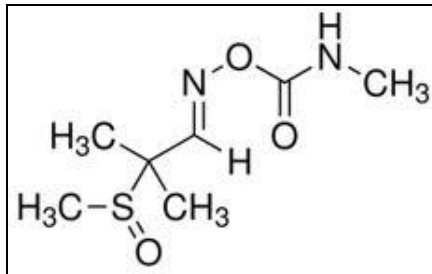


Figura 3: Estructura química del Aldicarb

Todos ellos son relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental y cuentan con cierta selectividad [1].

Su forma de acción es similar a los organofosforados, presentan algunas ventajas frente a los organofosforados como su eficacia contra insectos resistentes a estos últimos y su mayor seguridad de manejo [1].

Presentan desventajas ya que son de producción más difícil, más costosos y de mayor toxicidad frente a los insectos polinizadores. Ingresan a los mamíferos a través de la piel, tejido conjuntivo, vía respiratoria y vía digestiva [18].

Son activos inhibidores de la acetilcolinesterasa pero esta inhibición es transitoria, no se ha demostrado aun neurotoxicidad retardada con ningún carbamato [18].

Los carbamatos son pesticidas no persistentes, fácilmente degradables por acción de los microorganismos y por vía no biológica, especialmente por hidrólisis. Son poco volátiles, no tienden a absorberse a suelos ni a sedimentos, tampoco se bioconcentran en organismos acuáticos [18].

2.1.3.5. Piretroides:

El piretro es un extracto de las flores de crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) utilizada en forma comercial desde el siglo XIX [18].

A partir de las flores secas y molidas se extraía el piretro el cual era prensado para formar palillos los cuales se quemaban al interior de las casas japonesas por sus propiedades insecticidas [18].

La demanda de piretro se expandió a partir de la década de 1960, esto estimuló a la investigación sobre la composición y las propiedades del piretro natural [18].

Este consiste en una mezcla de ésteres derivados de dos ácidos y tres alcoholes; los ácidos crisantémico y pirétrico y los alcoholes piretrolol, cinerolol y jasmolol [18].

Una vez establecida la composición y estructura de los constituyentes del piretro se comenzó a fabricar los piretroides sintéticos con un gran éxito comercial [18].

La introducción de estos pesticidas en el mercado se produjo en 1980 y en 1982 su consumo suponía ya la tercera parte del uso mundial de pesticidas [1]. Por su estructura química los piretroides sintéticos son ésteres que se pueden agrupar en dos categorías: los piretroides de anillo, cuya molécula contiene un ciclopropano, y los de cadena abierta [18].

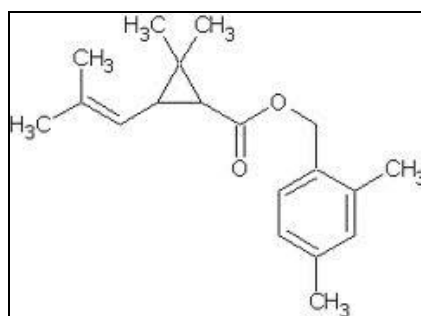


Figura 4: Estructura química del Dimetrin

Todos los piretroides actúan sobre los nervios motores y sensoriales del sistema nervioso central. El mecanismo de toxicidad consiste en la modificación de la cinética de apertura y cierre de los canales de sodio produciendo un estado de hiperexcitabilidad [18].

Los piretroides son menos tóxicos para los mamíferos, por lo tanto son de uso más seguro que las categorías de pesticidas descritos anteriormente. El

comportamiento ambiental de los piretroides varía dependiendo de la estructura molecular específica de cada compuesto [18].

Los piretroides se adhieren fuertemente a la fracción sólida de suelos y sedimentos, tienden a bioconcentrarse en organismos acuáticos y presentan una elevada toxicidad para los peces [1].

2.1.4. Toxicidad

En 1978, la Organización Mundial de la Salud estableció una clasificación basada en la peligrosidad de los pesticidas. Esta peligrosidad es definida como la capacidad del plaguicida en producir un daño agudo a la salud en un período de tiempo corto [19].

La toxicidad se mide a través de la dosis letal media (DL_{50}) o de la concentración letal media (CL_{50}). La clasificación de los pesticidas en relación a su toxicidad se muestra en la siguiente tabla [19]:

Tabla 1: Clasificación de los pesticidas en relación a su toxicidad

		DL ₅₀ para rata, expreso en mg/kg peso corporal				
		Vía Oral		Vía Dérmica		
Clase	Toxicidad	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	≤5	≤20	≤10	≤40	Paratión, Dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	5-50	20-200	10-100	40-400	Eldrín, Diclorvos
Clase II	Moderadamente peligrosos	50-500	200-2000	100-1000	400-4000	DDT, Clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	>500	>2000	>1000	>4000	Malatión

Fuente: Ramírez. 2001. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición
 Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

2.1.5. Usos

El uso dado a los plaguicidas ha sido múltiple y variado, lo que explica su presencia en varios ambientes. La agricultura es la actividad que más emplea este tipo de compuestos, consumiendo el 85% de la producción mundial [19].

Son principalmente usados en el cultivo del algodón, arroz, frutas y hortalizas, casi la mitad del consumo mundial de plaguicidas se emplea en trigo, cebada, maíz, arroz y algodón [18].

En América Latina el cultivo de flores y plantas ornamentales han adquirido gran importancia, cuyo consumo en pesticidas es elevado, debido a que el umbral económico de estos cultivos es muy bajo [19].

Un 10% de la producción total de plaguicidas se utiliza en actividades de salud pública para el control de enfermedades transmitidas por vectores, como la Malaria, la enfermedad de Chagas o el Dengue [18].

Además, se usan para el control de roedores, en la potabilización del agua y en la erradicación de cultivos ilícitos como la coca y la amapola cuyos productos finales son las drogas [19].

Se usan también para el control de plagas en grandes estructuras como centros comerciales, edificios, aviones, trenes y barcos. Se aplican en áreas verdes como parques y jardines, para controlar la proliferación de insectos, hongos y el crecimiento de malezas [18].

Con el mismo fin, se esparcen a lo largo de autopistas, vías férreas y torres con líneas de corriente de alta tensión. En reservorios de agua tanto naturales como artificiales se emplean para prevenir el crecimiento de plantas acuáticas, algas, hongos y bacterias [18].

En la industria se utilizan abundantemente en la fabricación de equipos eléctricos, neveras, pinturas, tapices, papel, cartón y materiales para embalaje de alimentos, entre otros [19].

Es común el uso secreto de los pesticidas, ya que sin estar citadas en la etiqueta las precauciones de su uso, son incorporados en productos como cosméticos y champús para preservarlos del desarrollo de organismos plaga [19].

2.1.6. Efectos sobre el ambiente

Los efectos adversos de los pesticidas sobre el ambiente se pueden agrupar en relación al sitio y lugar de exposición teniendo así la siguiente clasificación según Albert en el 2005:

- A corto plazo en el ambiente cercano.
- A largo plazo en el ambiente cercano.
- A largo plazo en el ambiente lejano.

2.1.6.1. Efectos a corto plazo en el ambiente cercano

Entre estos efectos se encuentran la contaminación inmediata del ambiente abiótico (suelo, aguas superficiales/subterráneas y aire) y, por otro lado, la

muerte de organismos sensibles como los enemigos naturales de las plagas o los insectos benéficos [1].

A corto plazo, los pesticidas afectan momentáneamente el equilibrio fisiológico de todos los organismos expuestos, incluidos los seres humanos. Este grupo de efectos incluyen las mortandades de aves y peces en muchas regiones agrícolas que afectan la diversidad biológica de la zona [1].

Principalmente el impacto adverso se da en los organismos que se encuentran en la base de las redes tróficas, como el plancton, las bacterias nitrificantes y los microorganismos del suelo [1].

2.1.6.2. Efectos a largo plazo en el ambiente cercano

Cuando los pesticidas son persistentes, estos contaminantes requerirán de varios años para degradarse. Así, aunque el producto deje de usarse en un lugar determinado, los suelos, los sedimentos y los mantos freáticos, quedan contaminados por varios años [1].

Un efecto a mediano y largo plazo en el ambiente cercano es el desarrollo de resistencia en los organismos y además esto contribuye a la aparición de nuevas plagas llamadas emergentes o de plagas secundarias [1].

La aparición de especies resistentes y las alteraciones ecológicas y agronómicas resultantes causan cambios en el uso del suelo con lo cual surgen problemas adicionales [1].

Los cambios en el uso del suelo aceleran la transferencia de los residuos de pesticidas a los eslabones superiores de la cadena trófica; no se ha establecido los efectos adversos que puedan presentarse a largo plazo por alimentos contaminados por este proceso [1].

También puede ocurrir una contaminación irreversible de los suelos y los mantos freáticos, lo que es de suma importancia en las zonas en donde el agua para consumo humano se obtiene principalmente de pozos [1].

2.1.6.3. Efectos a largo plazo en el ambiente lejano

Estos efectos requieren que el pesticida o alguno de sus productos de transformación sean persistentes; como el caso de los pesticidas organoclorados, los cuales se movilizan a sitios remotos en donde no se aplican [1].

Debido a esto tenemos la presencia de pesticidas en las zonas polares en donde no se usan, su biomagnificación a través de las redes tróficas, la extinción de especies y su presencia en los alimentos de origen animal [1].

En este grupo de efectos también deben incluirse la presencia de residuos de pesticidas en tejidos humanos y en la leche materna. Estos problemas han justificado la sustitución de los productos persistentes por otros que no presente esta característica [1].

2.2. Ensayos de Toxicidad

Los ensayos de toxicidad se emplean para diferentes fines como el establecimiento de concentraciones aceptables de diferentes parámetros fisicoquímicos, que permiten el cuidado de la vida acuática [5].

Además del cumplimiento de la legislación y proporcionar resultados útiles para la protección de la salud pública.

La ventaja fundamental de estos ensayos es su realización en condiciones rigurosas y controladas de laboratorio, de esta forma se puede establecer de manera cuantitativa la relación entre la exposición (dosis) y su efecto (respuesta) [18].

No es viable económicamente determinar la toxicidad específica de cada una de las sustancias tóxicas que pueden estar presentes en el agua, se efectúa el ensayo de toxicidad del efluente global [16].

Tras la exposición del organismo o grupos de organismos a distintas concentraciones del efluente, se miden y se registran los efectos biológicos observados en cada uno de los grupos tratados y en los grupos control, posteriormente, se efectúa el análisis estadístico de los datos obtenidos [16].

Según la cantidad de tóxico suministrada al organismo se puede expresar de dos formas:

- Concentración: masa de tóxico por unidad de volumen de agua.
- Dosis: cantidad de tóxico que penetra en el organismo por unidad de masa de tejido o de ser vivo sobre el que actúa [5].

La toxicidad que experimentan los organismos tras los ensayos puede ser de dos tipos:

- Toxicidad aguda: es un efecto adverso inducido sobre los organismos de ensayo en un periodo de exposición corto.

Esta toxicidad es suficientemente alta como para producir una respuesta rápida en los organismos (48 a 96 horas) y no implica necesariamente la muerte [5].

- Toxicidad crónica: son efectos tóxicos a largo plazo, están relacionados con cambios en el metabolismo, crecimiento o supervivencia como la reducción de la capacidad reproductora [5].

Los efectos biológicos que se producen en los ensayos se pueden definir de diversas formas y estos son los parámetros que se utilizan para determinar la toxicidad. A continuación se definen los parámetros más usados [5]:

- Concentración efectiva (CE_x): concentración del pesticida que produce efectos negativos apreciables en un porcentaje "x" de la población de ensayo.

Se usa el EC_{50} , el cual expresa la concentración efectiva que afecta al 50% de la población en estudio [5].

- Concentración letal (CL_x): concentración del pesticida que produce la muerte de un porcentaje "x" de la población de ensayo. Se usa el CL_{50} , que es la concentración letal que mata al 50% de la población [5].
- NEANO (nivel de efectos agudos no observados): mayor concentración del pesticida estudiado para la cual la mortalidad registrada es del 10% o menor [5].
- CENO (concentración de efectos no observables): mayor concentración medida de un pesticida para la cual no se observa reacción crónica alguna en las especies ensayadas [5].
- MCEO (menor concentración que produce efectos observables): se define como la menor concentración del pesticida para la que puede observarse algún efecto sobre la especie estudiada [5].

Estos estudios se utilizan como un paso previo a la comercialización de nuevos pesticidas o de aquellos que ya se encuentran en el mercado como lo indica la legislación ecuatoriana.

Este decreto es el 3609 y consta en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería, Título XXVIII del Reglamento de Plaguicidas y Productos afines de uso Agrícola.

Aquí es donde se establece que se tiene que contar con la información toxicológica necesaria que permita establecer sus efectos en el ambiente, la vida humana y animal.

Principalmente en estos estudios se utilizan animales de laboratorio como: aves, mamíferos e invertebrados; en el presente trabajo de investigación utilizamos la información toxicológica de *Daphnia magna* expresada en Concentración Efectiva 50 (EC₅₀).

Daphnia magna es un género de crustáceos planctónicos del orden Cladocera; se conocen vulgarmente como dafnias y también como pulgas de agua, debido a su tamaño y a su forma de nadar brincando.

Habitan en medios acuáticos y se alimentan esencialmente de fitoplancton, pudiendo también ingerir microorganismos como protistas y bacterias, así como materia orgánica particulada o disuelta [5].

Son capaces de tolerar el ser vistos vivos bajo un cubreobjetos y ser devueltos al agua, aparentemente sin sufrir daño alguno por lo cual son de gran utilidad para realizar ensayos toxicológicos [5].

Las especies del género *Daphnia* son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. Debido a su reproducción partenogenética lo cual asegura una uniformidad en la respuesta del test [5].

Los ensayos de toxicidad con *Daphnia magna*, permiten determinar el potencial contaminante de varias sustancias químicas como los pesticidas [5].

Además de aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, sedimentos, entre otros por lo cual su uso se ha masificado para realizar los diferentes ensayos de toxicidad [5].

2.2.1. Desventajas de los ensayos de toxicidad

Dentro de las desventajas de realizar estos ensayos está la detección de los efectos que se producen en los animales de ensayo con dosis bajas de compuestos analizados [20].

Esto exige el uso de un gran número de ejemplares que convierten al proceso inviable económicamente; debido a las condiciones que requieren los animales en el laboratorio. Además el tiempo que necesita cada ensayo, hace que el análisis de las muestras se realice en un lapso de tiempo demasiado largo [20].

Además el costo de las pruebas en animales es prohibitivo es decir que este costo se asigna al precio final de los productos químicos.

En un estudio de la Comisión Europea se estima que las pruebas toxicológicas de alrededor de 30.000 sustancias existentes se traducen en un costo total de 2 billones de euros en el mercado hasta el año 2013 [16].

En estas pruebas toxicológicas se estima que es necesario utilizar más de 12 millones de vertebrados [20].

Dentro de las limitaciones de estos ensayos tenemos restricciones económicas, consideraciones éticas y la presión pública para reducir las pruebas toxicológicas en animales [16].

La evaluación de la seguridad y la eficacia de compuestos utilizados como: pesticidas, medicamentos, cosméticos y compuestos industriales ha impulsado el desarrollo de métodos alternativos al empleo de animales de experimentación toxicológica [20].

Esto es debido en gran parte a la evolución de los conocimientos científicos y de sus aplicaciones tecnológicas y otra parte a consideraciones éticas, logísticas, económicas, sociopolíticas y legales [20].

Debido a las limitaciones de los ensayos de toxicidad se han desarrollado nuevos métodos que nos permiten reducir el número de animales utilizados, ahorrar tiempo y reducir el costo de las pruebas [24].

Dentro de estos métodos tenemos los modelos matemáticos de predicción dentro de los cuales se encuentran los siguientes:

- Cinética ambiental de compuestos químicos.
- Fármaco – toxicocinética.
- Relación Cuantitativa Estructura Actividad (QSAR).

En la presente investigación utilizamos la metodología QSAR la cual nos permite relacionar la estructura química y la respuesta biológica de los organismos frente a la acción de los pesticidas.

2.3. Análisis SAR y QSAR

2.3.1. SAR (Structure-Activity Relationships)

El estudio de la estructura molecular y la actividad de un compuesto están fundamentados en un enfoque racional basado en el supuesto de que hay ciertas relaciones entre la estructura molecular y la actividad biológica de los compuestos [21].

Esta relación es representada en el siguiente gráfico:

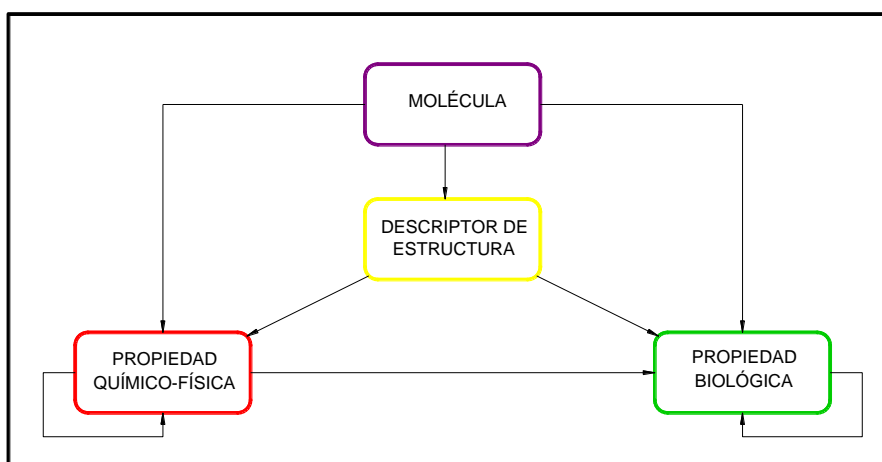


Figura 5: Relación estructura actividad/propiedad (SAR)

El análisis SAR es la utilización de la información de la estructura molecular de las sustancias químicas para predecir características importantes en materia de persistencia, distribución, captación-absorción y toxicidad de diversas sustancias [21].

El objetivo general de estos estudios es comprender la mecánica de la acción farmacológica o toxicológica, para sugerir la síntesis de nuevos compuestos con una actividad biológica definida [21].

Los supuestos fundamentales de los estudios SAR según Todeschini en el 2003 son:

- a. Un compuesto similar corresponde a una actividad biológica similar.
- b. Una modificación similar en la estructura molecular coincide con cambios similares en esta propiedad.

Por lo tanto matemáticamente los estudios SAR pueden ser expresados de la siguiente manera:

$$\text{Actividad} = f(\text{propiedades fisicoquímicas y/o propiedades estructurales})$$

Esta actividad biológica puede ser estudiada a diferentes niveles y determinar los efectos en cada uno de estos; se pueden distinguir los siguientes:

1. Nivel Macromolecular en este nivel se puede establecer las fuerzas de unión que tienen las moléculas como las constantes de inhibición y la constante de Michaelis [21].
2. Nivel celular se puede estudiar la mutagenicidad y las transformaciones celulares que podrían ocurrir cuando las células están en contacto con sustancias tóxicas [21].

3. Nivel de organismos se estudian dos efectos: crónicos y agudos. Dentro de los efectos agudos se puede determinar la respuesta biológica de algas, invertebrados, peces, aves y mamíferos [21].

En tanto que en la respuesta crónica se puede identificar la neurotoxicidad retardada, bioconcentración, biodegradación, carcinogenicidad, afectación a la función reproductiva de los organismos [4].

Los primeros acercamientos a la relación entre la estructura de las moléculas y sus propiedades o actividades se muestran en los siguientes estudios:

- Cros estudió en 1863 el aumento del punto de ebullición y del punto de fusión, en alcanos, al aumentar el número de átomos de carbono y la masa molecular. Asimismo observó una disminución de la solubilidad en agua de los alcoholes, al aumentar el número de átomos de carbono y la masa molecular [13].
- Hans, Horst, Meyer en 1899 y Charles Ernest Overton en 1901 observaron un aumento en la toxicidad de los alcoholes al aumentar log-P (coeficiente de partición aceite/agua), lo que resulta un caso típico de relación entre propiedades fisicoquímicas y actividad biológica [13].

- Corwin, Hansch y su equipo, en 1964, promovieron la hipótesis QSAR que afirma que moléculas semejantes tendrán un comportamiento similar tanto en las propiedades fisicoquímicas como biológicas [13].

2.3.2. Enfoque de Hansch

El rápido desarrollo en este campo de investigación ha sido desarrollado por Hansch y sus colaboradores a partir del año 1963.

Hansch afirma que una sustancia biológicamente activa para que se ponga en contacto con el sistema molecular de un organismo viviente, depende de la probabilidad de que esta sustancia alcance un sitio receptor [13].

Por lo tanto esta sustancia puede inducir a una determinada respuesta en el organismo, lo cual indica el efecto y la función característica de esa sustancia. El postulado de Hansch puede ser esquematizado en la siguiente ecuación [13]:

$$\text{Respuesta: } f1 (L) + f2 (E) + f3 (S) + f4 (M)$$

Donde las cuatro funciones son respectivamente las siguientes: propiedad lipofílica (L), las propiedades electrónicas (E), las propiedades estéricas (S) y finalmente cualquier otro tipo de propiedad molecular (M) necesaria para describir el efecto biológico estudiado [13].

El principio de la estrategia SAR solo es aplicado a compuestos de características químicas similares, en donde estos compuestos tienen que tener las siguientes características [16]:

- a) Los compuestos deben tener un esqueleto químico común.
- b) Los sustituyentes del esqueleto químico común no deben afectar de manera decisiva las propiedades globales de la molécula.

2.3.3. QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship)

Los estudios QSAR son basados en una serie de aplicaciones matemáticas y estadísticas que tienen como objetivo encontrar un modelo matemático cuantitativo que relacione la estructura molecular y una actividad definida [9].

QSAR es un tipo de estrategia que es aplicada sobre todo para resolver problemas en química, farmacología, ciencias ambientales y toxicología y está apoyada principalmente de técnicas estadísticas multivariantes y quimiometría [9].

En la siguiente figura se muestra un esquema general de trabajo en la metodología QSAR:

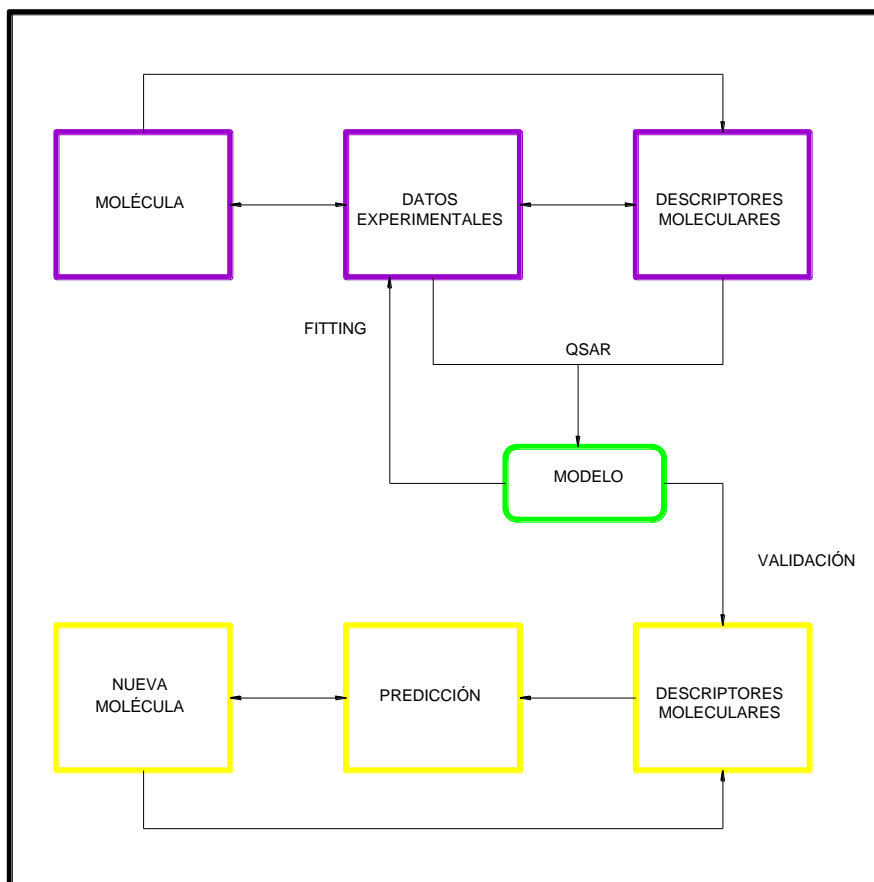


Figura 6: Esquema general de trabajo en la metodología QSAR

En la figura se evidencia la presencia de dos momentos, el primero en donde se realiza la construcción del modelo y la segunda fase que es la utilización del modelo para la predicción de nuevas estructuras moleculares con una actividad biológica definida.

QSAR facilita la identificación de sustancias potencialmente peligrosas lo que es de gran utilidad para los gobiernos a la hora de establecer que sustancias son

prioritarias a seguir siendo estudiadas y tomar decisiones tempranas sobre aquellas que se sintetizan [7].

Las actividades toxicológicas son cada vez más costosas y exigen cada vez más recursos. En los Estados Unidos se estima que el costo de un bioensayo de carcinogenicidad es de más de tres millones de dólares [7].

Aun cuando los recursos financieros fueran ilimitados, no habría suficientes toxicólogos formados para someter a ensayos a las aproximadamente 50.000 sustancias químicas que se producen hoy en el mundo [9].

Debido a esto QSAR es una base importante a la hora de determinar si hay razones suficientes para concluir que la manufactura, elaboración, distribución, uso o eliminación de una sustancia va a presentar un riesgo para el ambiente, la salud humana o animal [20].

2.4. Descriptores Moleculares en la estrategia QSAR

Un aspecto clave para el desarrollo de la metodología QSAR son los descriptores moleculares ya que se establece una correlación directa entre la actividad biológica de las moléculas y los descriptores moleculares [6].

Un descriptor molecular es el resultado final de un procedimiento lógico y matemático que transforma la información química y la codificada dentro de una representación numérica útil [4].

La clasificación más común de los descriptores moleculares de acuerdo con el enfoque de Hansch, hace referencia a tres grupos de propiedades fundamentales:

- a. Parámetros de hidrofobicidad
- b. Parámetros electrónicos
- c. Parámetros Estéricos (forma y dimensión)

Los descriptores moleculares pueden mostrar las características y tipologías más diversas, de manera particular los parámetros de hidrofobicidad pueden provenir de medidas experimentales, de cálculos teóricos o una simple operación de suma de factores [4].

Los parámetros electrónicos representan la molécula entera o un fragmento particular de la misma, pueden representar también un sustituyente de la molécula en un sitio definido [21].

En tanto que los parámetros estéricos requieren del conocimiento de la estructura tridimensional de la molécula, de su gráfico molecular o de la fórmula empírica. Los descriptores moleculares se pueden dividir en descriptores monodimensionales (1D), bidimensionales (2D), tridimensionales (3D) a nivel microscópico y macroscópico [21].

Los descriptores a nivel 1D son los más sencillos, son derivados directamente de la fórmula empírica de la molécula; como el caso del peso molecular, el número de átomos de carbono presentes en una molécula y sus diversos enlaces [21].

En el nivel 2D se encuentran los descriptores moleculares derivados del gráfico molecular y de la matriz de conectividad, principalmente los descriptores topológicos [21].

Los descriptores moleculares 3D son todos los descriptores que provienen de la estructura tridimensional, y del conocimiento de las coordenadas espaciales de la molécula [21].

A nivel microscópico son definidos todos los descriptores que consideran los aspectos conformacionales de la molécula y al nivel macroscópico los descriptores geométricos como el volumen y la superficie de la molécula [4].

Luego del nivel microscópico viene el nivel electrónico, donde tenemos la energía de los orbitales moleculares, el mapa de las densidades electrónicas y parámetros mecánico-cuánticos [4].

Finalmente los descriptores moleculares constituyen un importante subconjunto de descriptores de diverso género (químico, físico, biológico, ambiental, geográficos, geológicos, etc.) que se utilizan para la construcción de diversos modelos matemáticos [6].

2.5. Quimiometría

La quimiometría es una disciplina joven que está ligada a la metodología QSAR. Aparece con las contribuciones conjuntas de Svante Wold de la Universidad de Umea, Suecia y Bruce Kowalski de la Universidad de Seattle en los Estados Unidos [14].

En 1954 Wold y Kowalski proponen denominar a la Quimiometría como un sector científico que comprende todas las técnicas matemáticas dirigidas a procesar, tratar y modelar los datos químicos [14].

Por lo tanto la Quimiometría es una ciencia que utiliza la matemática, la estadística y la lógica formal para diseñar y seleccionar procedimientos experimentales que permitan obtener información y construir conocimiento mediante el análisis de los datos químicos [21].

Debido a su gran espectro de acción la quimiometría puede afrontar problemas de diferente índole en la química, bioquímica, medicina, biología, ingeniería y en las ciencias ambientales [9].

Todas estas ciencias generan sistemas complejos de información debido a que están compuestas por varias partes interconectadas o entrelazadas cuyos vínculos crean información adicional no visible antes del análisis [9].

Estos sistemas complejos están caracterizados por la gran dimensión de sus bases de datos en donde están contenidos cientos o miles de datos [9].

Con los avances de la informática se han podido desarrollar técnicas que permiten utilizar toda la información disponible en las bases de datos; minimizando el tiempo y el costo del análisis y maximizando la calidad de la respuesta [21].

Las técnicas quimiométricas emplean el análisis multivariante, el cual comprende un conjunto de métodos estadísticos cuya finalidad es analizar simultáneamente conjuntos de datos en donde existe una serie de variables medidas para cada objeto estudiado [21].

Por esta razón, este tipo de análisis da un mejor entendimiento de la problemática del fenómeno estudiado obteniendo toda la información posible de los datos, ya que con técnicas univariantes o bivariantes no se lograría este propósito [21].

En las ciencias ambientales la quimiometría ha tenido un gran desarrollo que se ha hecho visible en diversas áreas como en el análisis de las imágenes satelitales, estudios de la calidad del agua para caracterizar zonas de riesgo ambiental [12].

Caracterización de las fuentes de contaminación, en la ecotoxicología en estudios de estructura-actividad, en la optimización de procesos de combustión de los

residuos sólidos para la generación de energía y más estudios relacionados a la problemática ambiental [12].

Las técnicas quimiométricas estudian principalmente el modelamiento de los datos mediante técnicas de clasificación y regresión que están apoyadas en instrumentos de análisis muy potentes como los algoritmos genéticos y las redes neuronales [21].

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA USADA

3.1. Métodos de Clasificación

Los métodos de clasificación son técnicas estadísticas multivariantes que tienen como objetivo principal la construcción de modelos sobre la base de un cierto número de variables independientes (descriptores) [2].

Por lo tanto este modelo es capaz de identificar la clase correspondiente de cada uno de los objetos estudiados [2].

Un método de clasificación busca relacionar las variables independientes con una respuesta cualitativa (clase asignada), la condición necesaria para que el método de clasificación sea aplicado es que la clase sea previamente definida y que cada objeto del training set sea asignado a una de las clases definidas [9].

La definición de las clases se da mediante los siguientes criterios según Todeschini en el 2003:

1. Las clases son definidas por vía teórica.

2. Las clases son definidas por una variable categórica.
3. Las clases se buscan mediante el método de clúster análisis.
4. Las clases son definidas mediante la categorización de una variable cuantitativa.

Los métodos de clasificación resultan una estrategia de modelamiento más robusta que los métodos de regresión multivariante, ya que es menos sensible a la incertidumbre de los errores experimentales en la evaluación de la respuesta [21].

Para asignar un nuevo objeto los métodos de clasificación se basan en la mínima distancia que se encuentra entre el objeto y el centroide más cercano del espacio de clase en donde el nuevo objeto será clasificado [21].

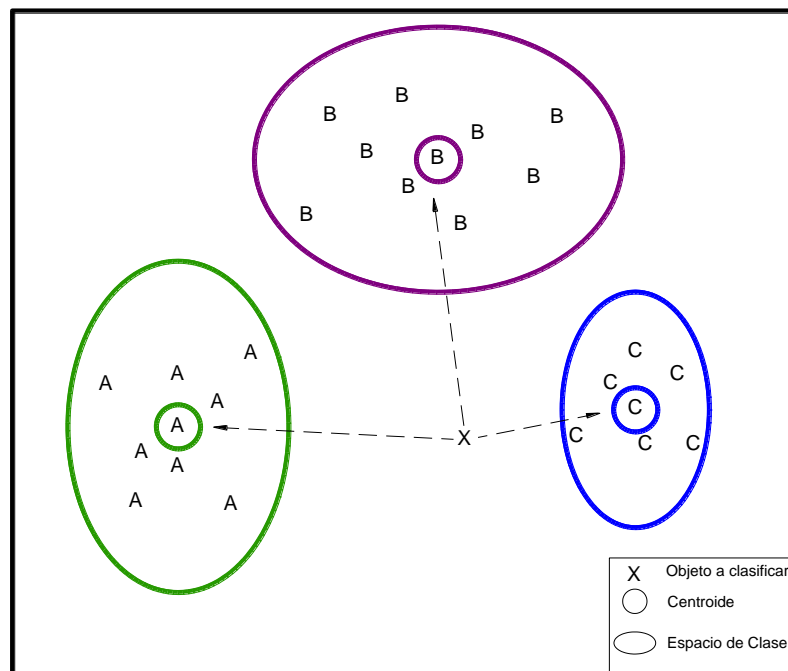


Figura 7: Metodología de Clasificación

Existe una vasta gama de métodos de clasificación los cuales permiten realizar la modelación de los datos, basados en la densidad de probabilidad para designar los objetos a las clases anteriormente definidas [9].

Entre estas técnicas tenemos los métodos de clasificación de confusión (*fuzzy classification methods*); aquí los objetos vienen asignados en relación a la probabilidad del espacio de clase más cercano [21].

Otro grupo importante son los métodos de clasificación de árbol (*classification tree methods*), estos métodos responden a la jerarquización de las variables mediante la separación binaria de los objetos produciendo modelos gráficos de fácil interpretación [10].

Dentro de los métodos de confusión se encuentra el método KNN el cual es aplicado en el trabajo de investigación para realizar la modelación de los datos y obtener una relación entre la estructura-actividad biológica de los pesticidas.

3.1.1. Parámetros de validación de la clasificación

El resultado de una clasificación puede ser sintetizada en una matriz de confusión. En las líneas se representan las clases verdaderas que serán utilizadas para realizar el training set [21].

En tanto que en las columnas se representan las clases asignadas a cada uno de los objetos luego de aplicar una técnica de clasificación y su respectivo proceso de validación [10].

Un ejemplo, supongamos que tenemos 30 objetos distribuidos en tres clases; A, B, y C. Donde la clase A tiene diez objetos, la clase B posee doce y la clase C contiene ocho objetos.

Luego de realizar un proceso de clasificación obtenemos la matriz de confusión que es la siguiente:

Tabla 2: Matriz de confusión

		Clases asignadas			n_g
		A'	B'	C'	
Clases Verdaderas	A	9	1	0	10
	B	2	8	2	12
	C	1	2	5	8
	n_g'	12	11	5	n = 30

Fuente: Todeschini, 2003. Introducción a la Quimiométrica
 Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

En la diagonal principal de la matriz de confusión se encuentran los objetos correctamente clasificados. En nuestro caso pertenecen a la clase A nueve, ocho a la clase B y cinco a la clase C.

Los números que se encuentran fuera de las celdas de la diagonal son aquellos objetos que son asignados erróneamente a otras clases y es en donde se calcula el error del modelo.

En nuestro caso un objeto de la clase A es asignado a la clase B, dos objetos de B son asignados a la clase A y dos en la clase C, y un objeto de C es clasificado en A y dos objetos son clasificados en la clase B.

En la última columna de la tabla se reporta el total de la línea (n_g), que corresponde al número de objetos distribuidos en las clases originales. La última línea de la tabla reporta el total de los objetos redistribuidos en las tres clases en base del modelo calculado (n_g').

El parámetro que sintetiza el resultado de un método de clasificación es el porcentaje de clasificación correcta (non-error rate, $NER\%$) definido de la siguiente manera:

$$NER\% = \frac{\sum_g c_{gg}}{n} \times 100$$

Donde c_{gg} son los elementos diagonales de la matriz de confusión. En el ejemplo propuesto, $NER\% = (22/30)$ donde tenemos un $NER\% = 53,3\%$.

Este proceso también se lo puede realizar para cada una de las tres clases:

$$NER\% (A) = 90\%$$

$$NER\% (B) = 66,5\%$$

$$NER\% (C) = 62.5\%$$

3.2. Método KNN

KNN es un método de clasificación no paramétrico, que para realizar la clasificación se basa sobre el concepto de analogía. El método se fundamenta en la elección de una distancia y en la selección oportuna de los K objetos más cercanos a la molécula en estudio [10].

Luego enumera cuántos de estos K objetos caen en cada clase y la molécula es atribuida a la clase más numerosa; esta evaluación se extiende a todos los objetos hasta determinar a qué clase corresponde cada uno de los objetos estudiados [21].

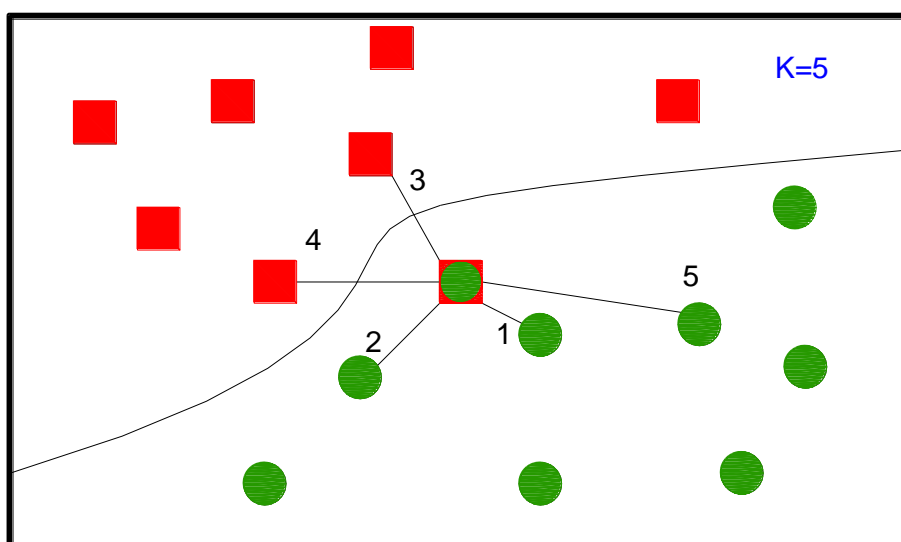


Figura 8: Asignación de las clases mediante el método KNN

El algoritmo KNN tiene las siguientes etapas según Todeschini en el 2003:

1. Escalado de los datos
2. Selección de la distancia a utilizar
3. Elección del número de K útil para la clasificación
4. Cálculo de la matriz de las distancias
5. Para cada objeto se consideran K objetos más cercanos
6. El objeto se asigna a la clase más representativa en función de los K vecinos más cercanos.

En la práctica es necesario probar diversos valores de K que oscilan entre 1 y 10 hasta obtener el valor óptimo, es decir en donde se comete el menor error de clasificación en los datos del training set [21].

KNN es un método que tiene gran simplicidad, una amplia aplicabilidad y su rendimiento en la respuesta obtenida es muy satisfactorio [10].

Debido a la dimensión de las bases de datos que son analizadas con las técnicas quimiométricas es necesario primero realizar una selección previa de las variables más importantes para construir el modelo.

En esta investigación para lograr en primera instancia esta fase utilizamos los Algoritmos Genéticos que son herramientas que se utilizan para la selección de variables óptimas.

3.3. Algoritmos Genéticos

Los Algoritmos Genéticos (AG) son una importante herramienta quimiométrica aplicada en problemas de optimización de datos en gran escala.

Este método fue propuesto por Holland en 1955 y en los últimos años han sido muy utilizados para la solución de problemas de optimización en muchos campos de investigación [10].

Los AG son modelos adaptativos que pueden usarse para resolver problemas de búsqueda y optimización de sistemas complejos. Se basan en el proceso genético evolutivo de los organismos vivos [21].

Un AG consiste en un ciclo interactivo de creación de conjuntos (cromosomas) de variables originales que generan poblaciones viables las cuales son las más óptimas para la construcción del modelo predictor [9].

Estos conjuntos son producidos con el menor NER, son retenidos los mejores y sobre esta población se procede con el apareamiento y mutaciones de los cromosomas para producir nuevos conjuntos predictores [21].

Se retienen siempre los mejores y se repite el ciclo interactivamente hasta alcanzar la máxima calidad de NER.

En el siguiente gráfico se esquematiza el funcionamiento de los Algoritmos Genéticos:

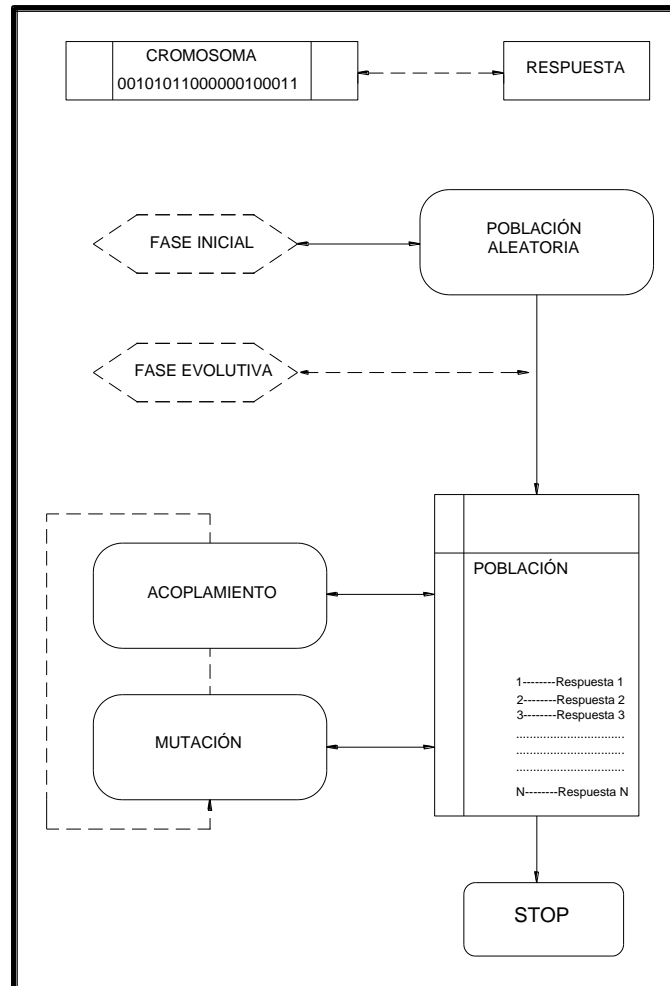


Figura 9: Esquema de la metodología utilizada por los Algoritmos Genéticos

En los AG se simula el proceso de selección natural y supervivencia de los organismos vivos en donde los más aptos sobreviven. De esta manera se obtiene un conjunto óptimo de variables necesarias para la construcción del modelo [21].

3.4. Obtención de los Datos

Para alcanzar el objetivo principal de la investigación contamos con una base de datos de pesticidas de la Universidad Hertfordshire de Inglaterra.

Esta es una completa base de datos relacionada con los parámetros físico-químicos y ecotoxicológicos de los pesticidas; este proyecto fue realizado por el AERU que es la Unidad de Agricultura y Ambiente de dicha universidad.

Esta base de datos cuenta con alrededor de 1800 sustancias químicas y sus metabolitos que son utilizadas en el agro alrededor del planeta como pesticidas.

Esta base de datos ha sido desarrollada principalmente para apoyar las evaluaciones de riesgo frente a la exposición de estas sustancias químicas en el ambiente, el ser humano y en los animales.

La base de datos está disponible en la red para desarrollar diversas investigaciones científicas y es actualizada constantemente.

El nombre de la base de datos es PPDB (Pesticide Properties Data Base) la dirección de búsqueda es: (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/es/index.htm>).

Esta base de datos cuenta con siete secciones las cuales se indican en la siguiente tabla:

Tabla 3: Secciones de la base de datos PPDB

Sección	Contenido
1	Descripción general del producto
2	Propiedades físico-químicas
3	Destino ambiental
4	Degradación
5	Absorción y movilidad en el suelo
6	Ecotoxicología
7	Salud humana

Fuente: PPDB

Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

De esta base de datos seleccionamos 192 pesticidas en relación a su estructura química los cuales son: piretroides, organofosforados, organoclorados y carbamatos.

De las secciones 1 y 6 de la base de datos se obtuvieron el gráfico molecular del pesticida y la EC_{50} (Concentración Efectiva 50) de *Daphnia magna*.

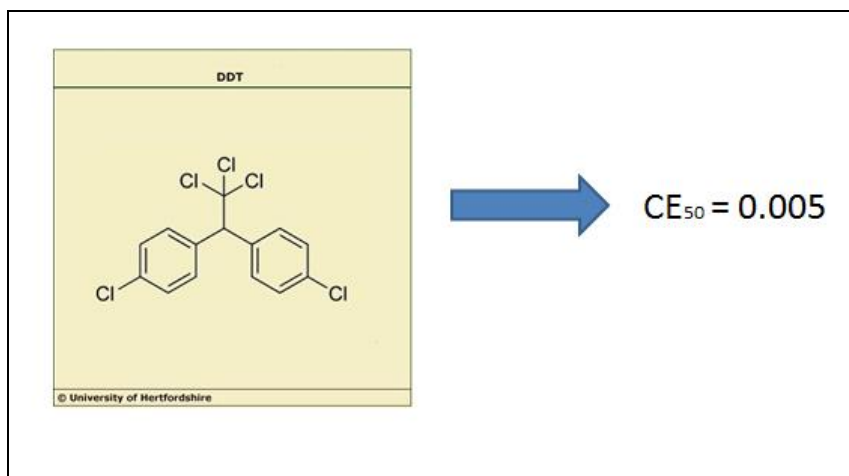


Figura 10: Esquema de la generación de la base de datos
Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

3.5. Digitalización y Optimización de las Moléculas

Mediante el software HYPERCHEM se digitalizaron y optimizaron las 192 estructuras moleculares de los pesticidas.

HYPERCHEM es un programa que permite realizar la modelación molecular y posee herramientas necesarias para la simulación química, el cálculo y visualización de propiedades moleculares.

Además incluye una amplia selección de métodos de mecánica cuántica, mecánica molecular y dinámica molecular que se complementan con sofisticadas capacidades de visualización 3D y animación.

Por tanto este programa nos permite conocer la estructura tridimensional de todas las estructuras moléculas de los pesticidas estudiados.

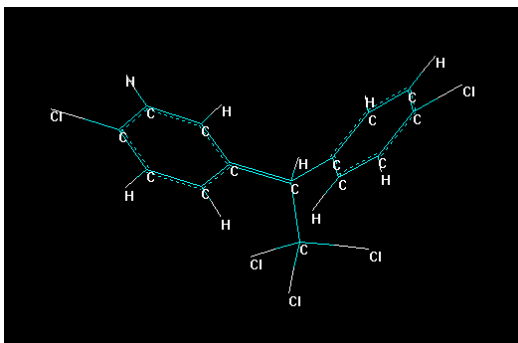


Figura 11: Estructura tridimensional de la molécula de DDT digitalizada en HYPERCHEM

Las moléculas son optimizadas en el programa debido a que necesitamos conocer las conformaciones moleculares estables sobre las cuales se van a calcular los descriptores moleculares necesarios para la modelación.

3.6. Cálculo de los Descriptores Moleculares

Las moléculas digitalizadas y optimizadas son llevadas al programa DRAGON, este es un software que nos permite el cálculo de los descriptores moleculares; DRAGON calculó 4800 descriptores moleculares para cada molécula estudiada.

El software inmediatamente reduce la dimensionalidad de la base de datos eliminando descriptores que no proporcionan información importante para el modelo.

Son eliminados los descriptores constantes o casi constantes (desviación estándar <0.00001), los que presentan valores faltantes y los que están correlacionados por más del 95% [6].

3.7. Normalización de los Datos

La matriz general de datos resulta reducida a las siguientes dimensiones: 192 moléculas por 1126 descriptores moleculares, con lo cual la dimensión de la base es de 216.192 datos contenidos en la matriz.

Tabla 4: Matriz de la base de datos

Molécula	Descriptores Moleculares			
	D 1	D 2	D 3	D 1126
1	X1	X2	X3	X1126
2				
3				
4				
n	Xn	Xn	Xn	Xn
192	192 X 1126 =			Datos: 216.192

Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

Se realizó un proceso de normalización a los datos de la toxicidad de *Daphnia magna* (CE₅₀) debido a la gran variabilidad de los datos, ya que valores demasiado grandes o pequeños pueden afectar la calidad final del modelo.

Para normalizar la EC₅₀ de *Daphnia magna* se realizó el siguiente cálculo:

$$\text{Valor normalizado} = \frac{1}{EC50}$$

Los valores obtenidos van desde $CE_{50} = 5,3$ mg/L; siendo este el valor del pesticida menos tóxico, hasta la concentración más baja encontrada $CE_{50} = 0.00001$ mg/L siendo esta la concentración más tóxica encontrada entre todos los pesticidas estudiados.

3.8. Asignación de las clases

Los valores obtenidos de la normalización se dividieron en tres clases, los de la clase 1 que tienen una toxicidad baja (0-33% de los datos), la clase 2 poseen una toxicidad intermedia (33%-66% de los datos) y finalmente la clase 3 con una toxicidad alta (66%-100% de los datos).

En la siguiente tabla se muestran los valores umbrales para cada clase asignada:

Tabla 5: Parámetros de las clases asignadas a los objetos

Parámetro	Clase 1	Clase 2	Clase 3
Valor Umbral	5,3 - 4,65 mg/L	<4,65 - 0,10 mg/L	<0,10-0,00001
Toxicidad	Baja	Media	Alta
Numero de objetos	64	65	63

Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

3.9. Aplicación del Algoritmo Genético

El método aplicado para construir el modelo es el método KNN con una previa selección de variables mediante algoritmos genéticos.

La construcción del modelo se realizó en el programa MATLAB 5.0 debido a la gran extensión de la base de datos. En el programa se utilizaron los Toolbox de los Algoritmos Genéticos diseñados por el Milano Chemometrics and QSAR de la Universidad Milano Bicocca (Italia).

Estos Toolbox necesitan ser programados en relación a los parámetros necesarios para obtener el mejor modelo de clasificación.

Los parámetros de programación se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6: Parámetros de programación para el Algoritmo Genético

Método	KNN
Escalado	Autoscaling
Grupos de cross-validación	5
Tipo de cross-validación	Ventanas venecianas
Número de cromosomas	30
Probabilidad de mutación	0.01
Probabilidad de cruce	0.5
Repeticiones	100
Número de	250

evaluaciones

Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

Luego de la modelización se analizan los parámetros de validación de la clasificación, si el NER% es satisfactorio se presentan los resultados en caso contrario se reformulan los parámetros y se realiza nuevamente la modelización hasta obtener el modelo de clasificación deseado.

Para la presente investigación los parámetros presentados en el cuadro son aquellos que nos permitieron obtener el mejor modelo con un NER% elevado. Los resultados se presentan en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez aplicado el algoritmo genético obtuvimos los siguientes resultados:

La calidad del modelo encontrado y validado en predicción se indica en la siguiente figura:

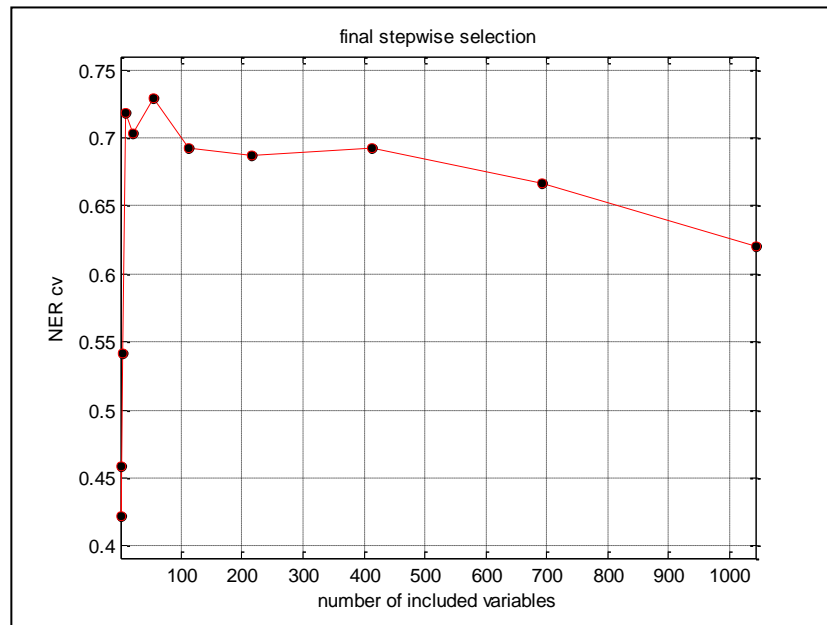


Figura 12: Relación entre número de descriptores considerados en la clasificación KNN y la calidad del modelo en predicción

El gráfico muestra la calidad en predicción del modelo expresado en NER-cross-validado al 20% de las moléculas (5 grupos de cancelación), este parámetro se incrementa hasta alcanzar su máximo nivel con 8 variables seleccionadas de las 1126.

La dimensionalidad de los datos es reducida gracias a la aplicación de los algoritmos genéticos. El análisis inicio con 1126 descriptores y al finalizar seleccionó 8 descriptores óptimos que relacionan la estructura molecular y la actividad biológica.

Todeschini en el 2010 señala que el uso de los algoritmos genéticos tiene su mayor aplicación en la búsqueda de las mejores variables que optimicen los modelos de clasificación y regresión.

El NERcv encontrado es 0,72; es decir que la capacidad predictiva del modelo es del 72%, utilizando el método de clasificación KNN, realizando previamente una selección de variables óptimas mediante los algoritmos genéticos.

El modelo encontrado y validado presenta una buena capacidad predictiva (NERcv=0,72) a pesar de tener una gran cantidad de moléculas (192) y de diverso origen químico (organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides).

Ferreira en el 2006 encuentra un modelo con un menor NER=0.71 y con un número mucho menor de moléculas (25). Por lo tanto el modelo encontrado en predicción posee una mejor capacidad predictiva y es más representativo.

La representatividad del modelo es mejor debido a que está construido con pesticidas de diversas características químicas; este modelo nos permite predecir la actividad biológica de nuevas moléculas que estén emparentadas químicamente.

Cruz en el 2009 señala que los métodos de clasificación son apropiados para modelar varias respuestas en los métodos QSAR, como por ejemplo: compuestos activos/no activos o compuestos de toxicidad baja, mediana y alta como es el caso de nuestro estudio.

KNN al ser un método de clasificación nos permite agrupar los diferentes tipos de pesticidas, ya que los modelos continuos solo describen de manera parcial la relación entre la estructura molecular de los pesticidas y su respectiva toxicidad (Benfenati, 2005).

Por lo cual KNN al ser un modelo de tipo discreto nos permite analizar de manera global la toxicidad y la estructura molecular de diversos tipos de pesticidas clasificados por su toxicidad y su estructura química.

Benfenati en el 2005 señala que los modelos continuos son más utilizados y estudiados debido a que su predicción devuelve un valor de toxicidad (modelo cuantitativo), en tanto que los modelos discretos muestran el valor de una clase de toxicidad (modelo cualitativo).

4.1. Resultados de la Matriz de Confusión

Mediante la matriz de confusión podemos determinar el NER% en relación a los objetos que están mal clasificados. La matriz se presenta a continuación:

Tabla 7: Matriz de confusión del método KNN obtenido

		Clase Asignada		
		Clase 1'	Clase 2'	Clase 3'
Clase Verdadera	Clase 1	44	13	5
	Clase 2	9	42	12
	Clase 3	3	13	49

Fuente: MATLAB 7.0

Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

Los objetos que están presentes en la diagonal de la matriz son aquellos objetos que se encuentran bien clasificados en relación a los grupos preestablecidos en la clasificación.

En tanto que los objetos que están fuera de la diagonal son aquellos que siendo de una clase predeterminada pertenecen a otra.

Al sumar los elementos de la diagonal y este valor ser dividido para el número total de objetos el resultado obtenido es el NER que para nuestro caso es del 0,72.

En tanto que para las diferentes clases se puede realizar el mismo proceso, los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 8: NER obtenido para cada una de las clases

Clase	NER %
1	69
2	66
3	75

Fuente: MATLAB 7.0.

Autor: Luis Fernando Cárdenas Calle

Los resultados muestran que el algoritmo es más sensible para aquellas moléculas que tienen una toxicidad elevada (mayor actividad biológica), correspondientes a las moléculas que se encuentran en la clase 3.

En tanto que el algoritmo resulta menos sensible a las moléculas de clase 2 y 1, con toxicidad media y baja respectivamente.

El algoritmo genético seleccionó 8 descriptores moleculares los cuales permiten la construcción del modelo y según el código de DRAGON son los siguientes:

1) B05 [C-P] indica la presencia o ausencia de un enlace C - P a una distancia topológica de 5.

2) B02 [C-N] indica la presencia o ausencia de un enlace C - N a una distancia topológica de 2.

3) MATS5i indica que existe una autocorrelación calculada según Moran pesando los potenciales de ionización de los átomos a una distancia de 5 enlaces.

4) E2p es un descriptor de direccionalidad de la molécula perteneciente al grupo WHIM.

5) CATS2D_02_DA es un descriptor básico que indica la existencia de un par donador-aceptador a una distancia de 2 enlaces.

6) CATS2D_04_LL es un descriptor básico que indica la existencia de un par lipofílico-lipofílico cada 4 enlaces en la molécula.

5) CATS2D_05_LL es un descriptor básico que indica la existencia de un par lipofílico-lipofílico cada 5 enlace en la molécula.

8) F09 (O-F) indica la frecuencia de un enlace O - F a una distancia topológica de 9.

En su mayoría los descriptores seleccionados por el algoritmo genético son descriptores básicos y topológicos.

Mediante el análisis de los centroides de las clases, podemos determinar que los descriptores moleculares que mejor separan las clases y definen a cada uno de los grupos son el descriptor molecular 6 y 7, esto lo podemos observar en la siguiente figura:

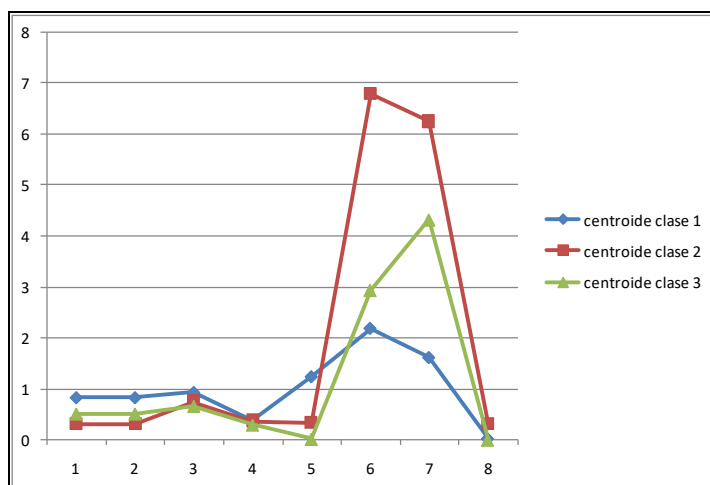


Figura13: Centroides de las clases asignadas

En el gráfico se puede ver que las variables 6 y 7 son la que separan y diferencian las tres clases de actividad biológica (toxicidad).

En la clase 3, aquellas moléculas que tienen mayor actividad, las variables 6 (CATS2D_04_LL) y 7 (CATS2D_05_LL) son las que tienen valores intermedios, lo cual nos indica la presencia de una actividad lipofílica media.

En la clase 2, las de mediana actividad, sus variables tienen valores altos de lipofílicidad, mientras que en la clase 1 presentan valores bajos. Esto indica que

En nuestro estudio los objetos clasificados en la clase 1 tienen la característica de ser moléculas de cadena lineal.

Los objetos de clase 2 tienen una estructura cíclica aromática (benceno) como su característica principal.

En los objetos de la clase 3 al igual que la clase 2 son estructuras cíclicas (benceno) y heterocíclicas en donde se encuentran más de dos anillos aromáticos o estructuras heterocíclicas que diferencian a la molécula.

Consonni en el 2010 señala que las técnicas QSAR y Quimiométricas combinadas son un gran instrumento que permiten determinar la relación entre la estructura molecular y la toxicidad de la molécula.

CONCLUSIONES

1. El algoritmo genético reduce la dimensionalidad de la base de datos ya que al iniciar el análisis se tenían 1216 descriptores moleculares de los cuales solo 8 describen la actividad biológica (toxicidad) de las moléculas de pesticidas.
2. El $NER = 0,72$ encontrado con el método KNN presenta una buena capacidad predictiva a pesar de tener en el modelo una gran cantidad de moléculas (192), y además estas ser de diferente origen químico (organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides).
3. El modelo encontrado resulta mucho más sensible para los objetos que tienen mayor actividad biológica (toxicidad); estas moléculas son clasificadas en la clase 3 y tienen un NER del 75%.
4. El modelo es más efectivo para determinar la toxicidad en moléculas que tengan una mayor actividad biológica que para nuestro estudio son las moléculas de la clase 3.
5. El análisis de los centroides de las clases muestra que los descriptores moleculares que separan y definen a las clases son los descriptores 6 (CATS2D_04_LL) y 7 (CATS2D_05_LL).

6. Los centroides de las clases nos indican que para que las moléculas tengan mayor actividad biológica (toxicidad) la molécula debe presentar una lipofílicidad intermedia.
7. La actividad lipofílica nos indica que los pesticidas son afines a las moléculas grasas; esta actividad afecta a los sistemas de membranas celulares, debido a que la principal molécula estructural de las membranas son los fosfolípidos.
8. Los modelos continuos son estudiados a pesar de que solo describen ciertas características moleculares y se basan sobre moléculas químicas similares.
9. En tanto que los modelos discretos describen de mejor manera la estructura y la respectiva toxicidad de las moléculas ya que podemos tener varias clases de pesticidas organizados por su estructura molecular.
10. Las técnicas QSAR y Quimiométricas combinadas son un gran instrumento para realizar investigaciones en el área farmacológica, estudios toxicológicos y en problemas ambientales relacionados con la contaminación.

RECOMENDACIONES

1. El modelo nos permite encontrar la toxicidad relacionada con *Daphnia magna*, este es un organismo cosmopolita que es ampliamente utilizado para ensayos toxicológicos; este organismo no podría responder de manera exitosa a las condiciones de nuestro medio.
2. Por lo tanto se debería realizar pruebas toxicológicas en organismos locales que podrán responder de mejor manera a la toxicidad en las condiciones específicas de nuestro medio.
3. La investigación realizada es de carácter básico, su aplicación sería válida si al momento de que ingrese un nuevo pesticida al país este sea introducido al modelo y el mismo nos devuelva su respectiva toxicidad.
4. Esto nos ayudaría a verificar si se están cumpliendo con las especificaciones básicas que deben tener los pesticidas en su etiquetado.
5. Difundir las metodologías QSAR y Quimiométricos que pueden ser de gran utilidad para enfrentar problemas toxicológicos, ecotoxicológicos, y en general problemas de contaminación orgánica (pesticidas, hidrocarburos).

6. En el modelo las clases pueden ser mejoradas y se deberían probar otros métodos de clasificación quimiométricos apoyados en algoritmos de redes neuronales que podrían mejorar la capacidad predictiva del modelo.
7. Implementar estudios QSAR en organismos locales creando protocolos de ensayo que nos permitan definir de mejor manera la estructura molecular y la toxicidad de las moléculas en condiciones ambientales orientadas a nuestro entorno.
8. Fomentar los estudios QSAR y Quimiométricos en las Ciencias Ambientales debido a que es una herramienta que nos permite identificar sustancias potencialmente peligrosas lo que sería de gran utilidad para los gobiernos a la hora de establecer políticas ambientales.
9. Además esto ayudaría a ver que sustancias son prioritarias a seguir siendo estudiadas y tomar decisiones tempranas sobre nuevas sustancias que se sintetizan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Albert, L., Benitez J., Impacto ambiental de los plaguicidas en los ecosistemas costeros, Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 2005. pp. 420-530.
- [2] Benfenati, E., Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) for Pesticide Regulatory Purposes, Laboratory of Environmental Chemistry and Toxicology, Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Elsevier, 2007. pp. 19-144.
- [3] Calva, L., Plaguicidas Organoclorados y sus efectos. Laboratorio de Ecosistemas Costeros, Departamento de Hidrología, UNAM, 2008. pp. 30-70.
- [4] Cardamone, L., Chemistry, Toxicology and QSAR, Politécnico de Milano, Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri". Chem. Inf. Model. 2010, 45, pp. 1565-1554.
- [5] Castillo, G., Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones, Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, 2005, pp. 100-150.
- [6] Consonni, V., "Molecular descriptors and chemometrics: a powerful combined tool for pharmaceutical, toxicological and environmental problems", Milano Chemometrics and QSAR Research Group, Department of Environmental Sciences, University of Milano-Bicocca, 2009, pp. 89-93.
- [7] Devillers, J., "A General QSAR Model for Predicting the Acute Toxicity of Pesticides to *Lepomis Macrochirus*". SAR and QSAR in Environmental Research. 11:5-6, 2010, pp. 395-415.
- [8] Ferreira, L., Multivariate QSAR., J. Braz. Chem. Soc., Vol. 13, No. 6, 2005. pp. 742-753.
- [9] Frank, I., Todeschini R., The Data Analysis Handbook. Elsevier Science. 2006. pp. 334-350.
- [10] Gemperline, P., Practical guide to Chemometrics, Second Edition, Taylor & Francis, 2007, pp. 50-100.
- [11] González, P., Riesgos químicos por uso de plaguicidas en el ambiente, FSAP, 2005, pp. 32-43.

- [12] Gramatica, P., Una Applicazione delle metodologie QSAR a problematiche ambientali di inquinanti organici. QSAR and Environmental Chemistry Research. Università degli Studi di Bologna - Dottorato in Chimica. 2005. pp. 10-30.
- [13] Hansch, C., "Chem-Bioinformatics: Comparative QSAR at the Interface between Chemistry and Biology", Chem. Rev, 2002, 102, pp. 583-812.
- [14] Leach, A., Introduction to Chemoinformatics, Published by Springer. Dordrecht, 2007, pp. 115-128.
- [15] Lumke, F., "Data-driven Modeling and Prediction of Acute Toxicity of Pesticide Residues", IGKDD Explorations, Volume 8, Issue 1 2009. pp. 53.
- [16] Mazzatorta, P., "QSAR Model for Predicting Pesticide Aquatic Toxicity", Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri". Chem. Inf. Model. 2010, 45, pp. 1554-1564.
- [17] Mohomad, B., Insecticidas organofosforados, Efectos sobre la salud y el ambiente, Toxicología de Insecticidas Universidad Autónoma de Nueva León, Culcyt. 2008. pp. 15-45.
- [18] Moreno, D., Toxicología Ambiental, McGraw Hill, Cap. 9. pp. 154:185.
- [19] Ramírez, J., Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición, Instituto de Salud Pública, Universidad Pompeu Fabra, Prev Riesgos Laborales, 2001, 4(2), pp. 54-64.
- [20] Repetto, A., Métodos Alternativos a la experimentación animal en la Evaluación de la Seguridad, Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, Jornadas de Toxicología Ambiental, 2004, pp. 26-64.
- [21] Todeschini, R., Introducción a la Quimiométrica, Edises, Universidad Milano Bicocca, 2003, pp. 80-220.
- [22] Toropov, A., "QSAR models for Daphnia toxicity of pesticides based on combinations of topological parameters of molecular structures", Bioorganic & Medicinal Chemistry 14, Science-Direct 2010, pp. 2559–2588.
- [23] Varona, M., 2012. Impacto en la salud y el medio ambiente por exposición a plaguicidas. Revista Chilena de Salud Pública. Vol 16 (2), 2012, pp. 96 -106.
- [24] Zvinavashe, H., "Quantitative structure-activity relationship modeling of the toxicity of organothiophosphate pesticides to Daphnia magna and Cyprinus carpio", Chemosphere. Elsevier. Chemosphere 55, 2009, pp. 1831–1838.

ANEXOS:

Tabla 1: Pesticidas ubicados en la categoría 3 (altamente tóxicos)

Nombre del Pesticida	Grupo	Toxicidad
Acefato	Fosforados	ELEVADA
Ampropylfos		
Anilofos		
Bensulida		
Dimetoato		
Etoprop		
Formotion		
Fosamina		
Fostiazato		
Iprobenfos		
Isazofos		
Metamidofos		
Profenofos		
Tiometon		
Vamidotion		
Alanycarb	Carbamatos	ELEVADA
Aldicarb		
Aldoxicarb		
Aminocarb		
Asulam		
Barban		
benthiavalicarbisopropyl		
Butilato		
Butocarboxim		
Butoxicarboxim		
Carbetamida		
Cicloato		
Clororofam		
Dazomet		
Desmedifam		
Dietofencarb		
Dimepiperato		
EPTC		

Nombre del Pesticida	Grupo	Toxicidad
etiofencarb	Carbamatos	ELEVADA
fenmedifam		
fenotiocarb		
fenoxicarb		
iprovalicarb		
molinato		
orbencarb		
Oxamilo		
Pebulato		
Profam		
propamocarb		
Propoxur		
prosulfocarb		
Tiobencarb		
Tiofanox		
trimetacarb		
vernolato		
alfaendosulfan	Clorados	ELEVADA
alpha-hexachlorocyclohexane		
bromociclen		
chlorthion		
clordano		
dicofol		
Nombre del Pesticida		
dienoclor		
endosulfan		
epichlorhidrina		
fomesafen		
lindano		
pentaclorofenato		
cihalotrina		
cycloprothrin		