

Persistencia del insecticida Clorpirifos en hojas y tallos de guayabo (*Psidium guajava* L.)

Persistence of Chlorpyrifos pesticide in leaves and stems of guava-tree (*Psidium guajava* L.)

Gretty ETTIENE¹✉, Pedro GARCÍA¹, Roberto BAUZA², Luis SANDOVAL³ y Deisy MEDINA¹

¹Departamento de Química, Facultad de Agronomía, ²Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias e ³Instituto de Investigaciones Agronómicas, Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. P.O. Box 15205, Maracaibo, Venezuela. E-mail: gettiene@yahoo.com ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 13/10/2009

Fin de arbitraje: 23/09/2010

Revisión recibida: 25/11/2010

Aceptado: 30/11/2010

RESUMEN

El guayabo es un cultivo cuyas hojas y ramas tienen alto potencial medicinal, pero es atacado por la “Mota Blanca” (*Capulnia* sp.), que coloniza la planta y causa su muerte y por esta razón los agricultores emplean frecuentemente Clorpirifos para su combate. En esta investigación se estudió la persistencia de Clorpirifos en hojas y tallos de tres tipos de guayabo: Criolla Roja, Brasileira y Tamare, haciendo una sola aplicación a la dosis recomendada por el fabricante y determinando sus niveles residuales en el tiempo (1, 5, 9, 24, 48 y 72 horas post-aplicación). Las muestras se analizaron empleando cromatografía de gases con detección nitrógeno-fósforo. Se obtuvieron altos porcentajes de recuperación en hojas y tallos (88,29-105,48%) para niveles de adición entre 0,025 y 0,250 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, con bajas desviaciones estándar relativas (0,10-6,72%) y un bajo límite de detección (0,0147 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). La disipación de Clorpirifos en hojas y tallos siguió una cinética de primer orden. Los tiempos de vida media en hojas de Criolla Roja, Brasileira y Tamare fueron: 9,42; 12,47 y 10,60 horas, respectivamente y para tallos 12,33; 13,18 y 11,87 horas, respectivamente. Estos resultados indican que la persistencia es mayor en tallos que en hojas ($P<0,01$), debido posiblemente a que los tallos están protegidos de la exposición directa a los rayos solares por las hojas, por lo que la disipación del insecticida por efectos de volatilización y fotodegradación es menor. Adicionalmente, se determinó que la disipación en hojas ocurrió en el siguiente orden: Brasileira>Tamare>Criolla Roja ($P<0,01$) y en tallos: Brasileira>CriollaRoja>Tamare ($P<0,01$).

Palabras clave: Persistencia, insecticida organofosforado, tiempo de vida media, *Psidium guajava*.

ABSTRACT

The guava is a crop whose leaves and stems have high medicinal potential, but is attacked by the “Guava Cottony Scale” (*Capulnia* sp.), which colonizes the plant and cause his death, and farmers often employ Chlorpyrifos for combat. This study examined the persistence of Chlorpyrifos in leaves and stems of three types of guava: Red Native, Brazilian and Tamare, with a single application at the recommended dose by the manufacturer and determine their residual levels in time (1, 5, 9, 24, 48 and 72 hours post application). The samples were analyzed using gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. There were high percentages of recovery in leaves and stems (88.29-105.48%) to addition levels between 0.025 and 0.250 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, with low relative standard deviations (0.10-6.72%) and a low detection limit (0.0147 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Chlorpyrifos dissipation in leaves and stems followed a first order kinetics. The half-life times in leaves of Red Native, Brazilian and Tamare were 9.42, 12.47 and 10.60 hours, respectively and in stems: 12.33, 13.18 and 11.87 hours, respectively. These results indicate that the persistence is greater in stems than in leaves ($P<0.01$), due possibly to the stems are protected by the leaves causing exposure to sunlight is less, reducing the dissipation of the insecticide by volatilization and photodegradation effects. Additionally, it was determined that the dissipation in leaves occurred in the following order: Brazilian>Tamare>Red Native ($P<0.01$) and in stems: Brazilian>Red Native>Tamare ($P<0.01$).

Key words: Persistence, organophosphorus pesticide, half-lives, guava.

INTRODUCCIÓN

“Mota Blanca del Guayabo” (MBG) es el nombre común de una especie de escama que comúnmente se consigue formando colonias en las plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.), principalmente sobre tallos y ramas; es un insecto hemíptero de la familia Eriococcidae considerado

altamente nocivo para este cultivo (Cermeli y Geraud, 1997; Camacho *et al.*, 2002).

Las infestaciones por la MBG han representado el mayor problema entomológico en la producción del cultivo del guayabo en el ámbito nacional, continental y muy probablemente mundial (Geraud y Chirinos, 1999; Geraud *et al.*, 2001).

Estudios realizados por expertos en el control de plagas han demostrado la alta efectividad de un insecticida organofosforado (fosforotionato) denominado Clorpirifos, en el control de la MBG (Chirinos *et al.*, 2000; Chirinos *et al.*, 2007), pero que puede resultar contraproducente por su toxicidad (ATSDR, 1997; Vargas y Ubillo, 2001; Dow AgroSciences, 2003; Badii y Varela, 2008). En el estado Zulia se evaluó la persistencia de Clorpirifos en frutos de guayabo luego de su aplicación al cultivo, a la dosis recomendada por el fabricante (Sánchez *et al.*, 2005), sin embargo, se desconoce cuánto tiempo permanece el insecticida en las hojas y los tallos de las plantas después de ser aplicado.

El guayabo, además de las propiedades nutricionales de sus frutos (Arenas *et al.*, 1999; Laguado *et al.*, 1999; Medina *et al.*, 2003), posee un importantísimo potencial medicinal en sus hojas, ramas y raíces (Conde *et al.*, 2003; Shaheen *et al.*, 2000; Ojewole, 2005; Pérez *et al.*, 2008; Won *et al.*, 2005), por los componentes bioquímicos presentes en ellos, principalmente taninos, fenoles, triterpenos y flavonoides, que los convierten en posibles fuentes de fármacos para el combate de parásitos causantes o coadyuvantes de diversas enfermedades estomacales e intestinales y, también, para el combate de enfermedades degenerativas, cardiopáticas y cancerígenas, por sus propiedades antioxidantes y acción cardioactiva (Almeida *et al.*, 1995; Begum *et al.*, 2002; Conde *et al.*, 2003; Jaiarj *et al.*, 1999; Lozoya *et al.*, 1994; Lozoya *et al.*, 2002; Lutterodt y Maleque, 1988; Pérez *et al.*, 2008; Vargas *et al.*, 2006), lo que justifica el estudio de los factores que pueden interferir y comprometer esa potencialidad.

El objetivo de este trabajo fue determinar la persistencia del insecticida Clorpirifos en hojas y tallos de tres tipos o selecciones de guayabo: Criolla Roja, Brasileira y Tamare, en diferentes momentos después de su aplicación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de disipación del Clorpirifos en el tiempo, en las muestras de hojas y tallos de tres tipos de guayabo requirió un experimento diseñado totalmente al azar con un arreglo de tratamientos de parcelas divididas en el tiempo, ubicando como parcela principal los efectos del tipo de guayabo y órgano (tallo y hoja) y como parcela secundaria el efecto del tiempo. Se utilizaron los tipos de guayabo:

“Criolla Roja”, “Brasileira” y “Tamare”, por ser de los más disponibles y, además, por estar presentes en el Umbráculo de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, ubicado en la coordenadas 10°34'00" LN, 71°44'00" LO y en una zona clasificada agroecológicamente como de bosque seco tropical; altitud: 6 msnm; precipitación media anual: 510 mm; temperaturas promedio mínima y máxima: 25 y 32 °C, respectivamente. Sitio del que se obtuvo el material vegetal y en el cual se desarrolló la parte de campo de la experiencia.

Los tipos de guayabo utilizados en esta investigación no pueden ser considerados como variedades, sino más bien selecciones o variantes de *Psidium* por las razones expuestas por Molero *et al.* (2003) y Sánchez *et al.* (2007). Criolla Roja, Brasileira y Tamare son los nombres con los que comúnmente se conocen estos cultivares de guayabo en las zonas de producción, lo que se ha denominado “variedad del agricultor” como indica Sánchez *et al.* (2007). Criolla Roja es una de las variantes de *Psidium* más utilizada por los productores locales y Tamare es una selección denominada técnicamente como AGROLUZ-14, establecida en el campo experimental del Centro Socialista de Investigación y Desarrollo Frutícola (CESID Frutícola y Apícola) de CORPOZULIA (Molero *et al.*, 2003). No hay información publicada sobre el tipo Brasileira, sin embargo, se ha conocido por vía oral que es una variante de *Psidium* que fue introducida en la zona del Sur del Lago de Maracaibo por un productor que trajo semillas de este guayabo de Brasil.

Se hizo una única aplicación del insecticida y al inicio del experimento. Se aplicó el producto comercial Lorsban 4E (ingrediente activo Clorpirifos 48%) a las plantas involucradas, a la dosis sugerida por el fabricante (1 cm³/L de agua), utilizando 2 L de insecticida para cada uno de los dos tipos de guayabo Criolla Roja y Tamare y 1 L para el tipo Brasileira, debido a las diferencias de desarrollo morfológico de las plantas de estos tres tipos de guayabo.

La persistencia del Clorpirifos se evaluó, en las muestras vegetales, durante un período en el que se realizaron seis muestreos espaciados en el tiempo, a 1, 5, 9, 24, 48 y 72 horas, después de la aplicación. La experiencia no pudo ser prolongada más allá de las 72 horas por problemas técnicos imprevistos, relativos a la fuente de suministro del material vegetal utilizado en el experimento.

Por las cuestiones de disponibilidad de material de experimentación y manejo en el laboratorio en las determinaciones de Clorpirifos se consideró lo siguiente: En tallo, se estableció como unidad experimental una rama. Cada muestreo de tallo consistió de tres ramas por tipo de guayabo, con lo que se conformaron tres repeticiones de tallo por tipo de guayabo y muestreo, para un total de 54 muestras de ramas en el experimento (3 ramas x 3 tipos de guayabo x 6 muestreos en el tiempo). En hoja, se consideró tomar 10 hojas por rama como unidad experimental, para conformar 3 repeticiones por cada tipo de guayabo por muestreo, lo que totalizaría 540 muestras de hojas colectadas (10 hojas x 3 ramas x 3 tipos de guayabo x 6 muestreos en el tiempo) en el experimento.

En los muestreos se empleó una metodología de selección aleatoria de las ramas, se cuidó en lo posible que fueran de longitudes y número de hojas similares, recientemente maduras, de brotes no fructificados y de la periferia y parte media de la copa de los árboles (Rendiles *et al.*, 2004). Las muestras de hojas se obtuvieron de cada una de estas ramas, tratando de que fueran de igual tamaño y tomadas en dirección del ápice hacia la base de la rama.

En cada muestreo, el material vegetal colectado fue llevado de inmediato y debidamente protegido a la Sección de Cromatografía del Instituto de Investigaciones Agronómicas de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia, donde se hizo la separación de ramas y hojas, para su posterior procesamiento por separado. Todos los materiales se homogenizaron con un procesador de alimentos marca Oster.

La preparación de las muestras de hojas y tallos de cada uno de los tipos de guayabo Criolla Roja, Tamare y Brasileira para la extracción del Clorpirifos se realizó mediante la combinación de extracción asistida con ultrasonido y limpieza en fase sólida con carbón grafitado, mediante la metodología descrita en Ettiene *et al.* (2010).

En la evaluación de la eficiencia del método de análisis se empleó un estándar de alta pureza (99,0%) del insecticida Clorpirifos, del laboratorio Dr. Ehrenstorfer GMBH (Ausburg, Alemania) para preparar la solución madre (2000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) en acetato de etilo grado HPLC (Baker, U.S.A), a partir de la cual se prepararon las soluciones de trabajo: calibración y salpicado, por dilución con acetato de

etilo y metanol en grado HPLC, respectivamente; estas soluciones se almacenaron en oscuridad a 4 °C.

Se utilizó como estándar interno trifenílfosfato (TPP) con 99,0% de pureza (Riedel de Haën). Los solventes empleados para el desarrollo de este trabajo fueron: acetona (99,8% de pureza, Riedel de Haën), acetato de etilo y n-hexano (98,5% de pureza, E.M. Science), diclorometano y acetonitrilo (99,9% de pureza, Fisher Scientific Company). La cuantificación se realizó empleando un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Autosystem, equipado con una columna capilar DB-17 de 30 m x 0,53 mm D.I. x 1 μm de espesor de una película de 50% fenil metil polisiloxano, un detector nitrógeno-fósforo y un inyector automático Perkin Elmer. La cuantificación de los residuos se realizó por estándar interno, empleando TPP. El tiempo total de la corrida fue de 30 min. Se usó como gas de arrastre: He a 10 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; gas del detector: H₂ 1,70 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; Aire: 100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; temperatura del inyector: 250°C; temperatura del detector: 280°C; umbral del detector: 0,75 mV; programa del horno: T1: 60°C, por 0,80 min; rampa 1: 40°C $\cdot\text{min}^{-1}$ - 160°C; rampa 2: 3,5°C $\cdot\text{min}^{-1}$ - 230°C; rampa 3: 8°C $\cdot\text{min}^{-1}$ - 280°C por 1 min.; inyección: modo Split Less con apertura de válvula a los 0,80 min.

Con los métodos de extracción y limpieza optimizados se evaluó la disipación de Clorpirifos en las muestras de hojas y tallos de los tres tipos de guayabo estudiados. Se determinaron los niveles residuales en función del tiempo, a 1, 5, 9, 24, 48 y 72 horas después de la aplicación y, posteriormente, se calcularon los tiempos de vida media y la cinética de disipación del insecticida como lo indica Sánchez *et al.* (2005), a su vez, se evaluaron funciones matemáticas para determinar los mejores ajustes del comportamiento de la disipación de Clorpirifos en el tiempo, en cada uno de los tres tipos de guayabo.

Los datos se analizaron estadísticamente con medidas de tendencia central y dispersión (media, desviación estándar, desviación estándar relativa), análisis de varianza con pruebas de separación de medias, análisis de correlación lineal y análisis de regresión. Los análisis de regresión se realizaron con el software de Hyams (2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método de análisis basado en la combinación de extracción asistida con ultrasonido y

limpieza en fase sólida con carbón grafitado permitió obtener altos porcentajes de recuperación de Clorpirifos, tanto en hojas como en tallos (88,29-105,48%) para niveles de adición entre 0,025 y 0,250 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, con bajas desviaciones estándar relativas (0,10-6,72%) y un bajo límite de detección (0,0147 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Los porcentajes de recuperación de Clorpirifos y sus respectivas desviaciones estándar relativas para hojas y tallos de los tres tipos de guayabo estudiados, con niveles de adición entre 0,025 y 0,250 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ han sido reportados por Ettiene *et al.* (2010).

El seguimiento de la disipación de Clorpirifos desde el día de la aplicación de la formulación comercial hasta el día 3 se presenta en el cuadro 1. Se observan los valores obtenidos de las concentraciones residuales de Clorpirifos en las muestras de hojas de guayabo de los tipos Criolla Roja, Brasilera y Tamare.

La concentración de Clorpirifos determinada una hora después de la aplicación al tipo de guayabo Criolla Roja fue de 56,59 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, es considerada como la concentración inicial (100,00%). Cuatro horas más tarde (quinta hora) se observó un descenso de 32,01 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, que corresponde a un 56,56% de disipación con respecto a la concentración de la primera hora post aplicación. En la determinación de la novena hora se observó un incremento de 10,79 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ con respecto a la segunda medición, lo cual no es un comportamiento esperado, sin embargo, Liapis *et al.* (1994), quienes estudiaron la disipación de Monocrotofos en tomates y reportan un comportamiento similar, atribuyeron la brusca disminución de la concentración del insecticida a la volatilización y el posterior incremento de la concentración a la adhesión del insecticida al órgano y a su subsecuente penetración. Sánchez *et al.* (2005) destacan que Clorpirifos se clasifica como un insecticida de contacto, pero presenta un ligero poder

de penetración en el tejido, por lo que este comportamiento no ideal en la hoja posiblemente se deba a esos mismos factores: volatilización que disminuyen la concentración del insecticida y adhesión-penetración que aumentan su concentración.

Después de 24 horas de la aplicación del insecticida la concentración en la muestra de hojas de guayabo Criolla Roja disminuyó bruscamente hasta 5,00 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, correspondiendo a un 91,16% de disipación en relación a la concentración medida la primera hora. La disipación del insecticida siguió aumentando en forma progresiva los días dos y tres, con porcentajes de disipación de 96,11 y 97,30%, respectivamente, en relación a la concentración de la primera medición.

El comportamiento matemático de la disminución de la concentración residual de Clorpirifos en las hojas de guayabo tipo Criolla Roja que se observa en la figura 1 se ajustó más adecuadamente al modelo conocido como modelo de Hoerl, que pertenece a la familia de los modelos de potencia (Hyams, 2010) y su ecuación específica es: $y = 58,3409 \times 0,9532^x \times x^{-0,2045}$, $R^2 = 0,9111$.

La determinación de la cinética de disipación del insecticida se hizo graficando el logaritmo neperiano de la concentración versus el tiempo transcurrido después de la aplicación (Ettiene *et al.*, 2005 y Ettiene *et al.*, 2006). Esta representación gráfica muestra una línea recta con un $r = -0,9382$ ($P < 0,01$), lo que indica que la velocidad de disipación de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Criolla Roja sigue una cinética de primer orden, con un tiempo de vida media de 9,42 horas y una alta correlación negativa entre los residuos de Clorpirifos y el tiempo. La ecuación matemática correspondiente es: $y = -0,0736x + 5,2268$, $R^2 = 0,8802$.

Cuadro 1. Residuos de Clorpirifos (en $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y porcentaje) en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.).

Horas después de la aplicación	Tipo de guayabo								
	Criolla Roja			Brasilera			Tamare		
	\bar{X}	(DER)	%	\bar{X}	(DER)	%	\bar{X}	(DER)	%
1	56,59	(1,01)	100,00	26,75	(1,58)	100,00	68,44	(2,48)	100,00
5	24,58	(0,28)	43,44	20,27	(0,36)	75,78	36,29	(0,79)	53,02
9	35,37	(1,28)	62,50	25,18	(0,46)	94,13	49,98	(1,72)	73,03
24	5,00	(0,25)	8,84	5,75	(0,07)	21,50	7,81	(0,11)	11,41
48	2,20	(0,04)	3,89	2,49	(0,14)	9,31	4,48	(0,11)	6,55
72	1,53	(0,03)	2,70	2,27	(0,20)	8,49	2,80	(0,10)	4,09

\bar{X} (DER): Media y su desviación estándar relativa expresada en porcentaje. $n = 3$.

En términos generales, el comportamiento de la disipación del Clorpirifos en las hojas de guayabo del tipo Brasileira fue similar al observado en Criolla Roja. La concentración del insecticida determinada en la primera hora fue de $26,75 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (100,00%), menor que la de Criolla Roja posiblemente debido al menor volumen de solución insecticida aplicado a este tipo de guayabo.

A la quinta hora después de la aplicación se observó una reducción de $6,48 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, que corresponden a un porcentaje de disipación de Clorpirifos de 24,22 %, con respecto a la concentración de la primera hora; luego hubo un incremento de la concentración de los residuos en la novena hora ($25,18 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, equivalente a un 94,13% de la concentración inicial) en relación a la concentración de la quinta hora ($20,27 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), de $4,91 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, que se justifica igualmente como en el caso de Criolla Roja, por lo explicado por Liapis *et al.* (1994) y Sánchez *et al.* (2005), como un efecto de la penetración del insecticida en el tejido de las hojas muestreadas.

Los porcentajes de disipación de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Brasileira los días uno, dos y tres, con respecto a la primera hora de muestreo, fueron 78,50%, 90,69% y 91,51%, respectivamente. La representación gráfica del comportamiento de la disipación de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Brasileira en el tiempo se muestra en la figura 2. Este comportamiento se corresponde más adecuadamente con el descrito por el modelo de Harris, el cual pertenece a la familia de

los modelos de rendimiento y densidad, según el análisis hecho con el software de Hyams (2010). La ecuación matemática correspondiente es: $y = 1/(0,03855709 + 0,00008035x^{2,18763358})$, $R^2 = 0,9336$.

La cinética de disipación de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Brasileira fue de primer orden, con tiempo de vida media de 12,47 horas y coeficiente de correlación $r = -0,9397$ ($P < 0,01$). La ecuación matemática correspondiente es: $y = -0,0665x + 4,599$ con $R^2 = 0,883$.

En el caso de las hojas de guayabo del tipo Tamare, la disipación de Clorpirifos presentó un comportamiento como el descrito para los tipos Criolla Roja y Brasileira; la concentración de Clorpirifos determinada la primera hora fue de $68,44 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (concentración inicial, 100,00%), produciéndose un descenso a $36,29 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (53,02% de la inicial) en la quinta hora, que representa una disminución de $32,15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, lo que corresponde a un 46,98 % de disipación con respecto a la concentración inicial. En la novena hora se presentó el mismo fenómeno observado en los casos de Criolla Roja y Brasileira: la concentración se incrementó a $49,98 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (73,03% de la inicial), $13,69 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ más que la concentración de la quinta hora de muestreo, posiblemente por las razones expuestas por Liapis *et al.* (1994) y Sánchez *et al.* (2005).

Entre las 24 y 72 horas después de la aplicación del Clorpirifos los residuos disminuyeron

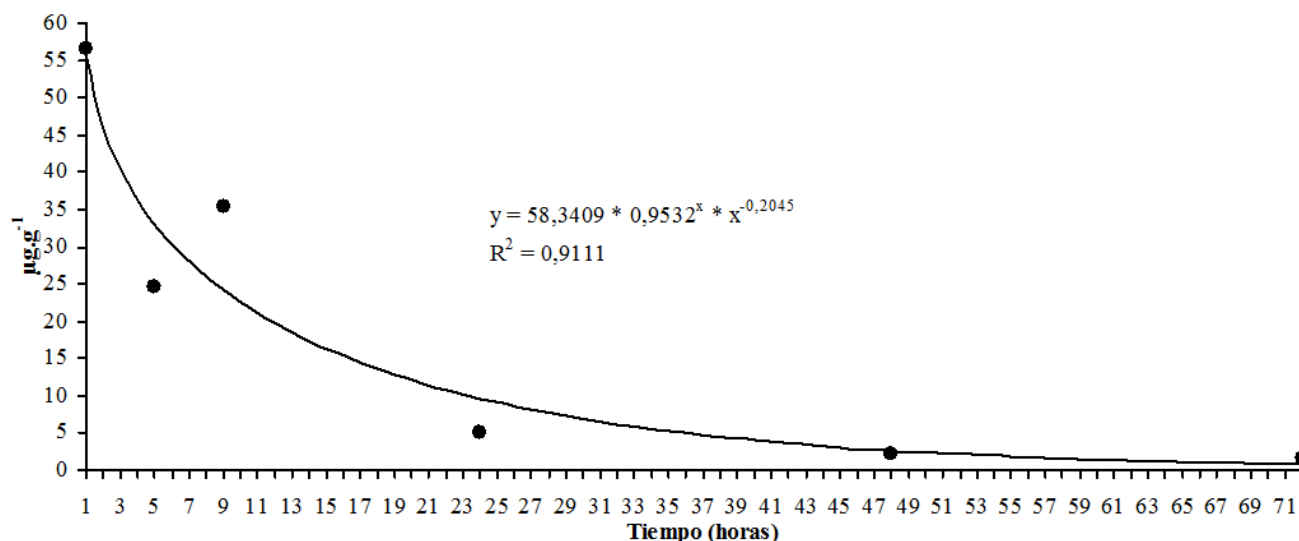


Figura 1. Disminución de la concentración de residuos de Clorpirifos en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.) del tipo Criolla Roja.

con porcentajes de disipación de 88,59 % el primer día, 93,45 % el segundo día y 95,91 % el tercer día, en relación a la concentración residual determinada en la primera hora después de la aplicación. La figura 3 muestra la disminución de la concentración residual de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Tamare, en el tiempo. El mejor ajuste de este comportamiento se logró con el modelo de Hoerl (Hyams, 2010) y la ecuación matemática correspondiente es: $y = 70,7899 \times 0,9469^x \times x^{-0,0846}$, $R^2 = 0,9039$.

El gradiente de reducción de la concentración de residuos de Clorpirifos en muestras de hojas de guayabo del tipo Tamare siguió una cinética de primer orden, con un tiempo de vida media de 10,60 horas y un coeficiente de correlación lineal $r = -0,9388$ ($P < 0,01$), indicando un decrecimiento lineal

en el tiempo que se corresponde con el modelo matemático: $y = -0,0654x + 5,6565$, con $R^2 = 0,8813$.

El análisis de los tiempos de vida media determinados para Clorpirifos en muestras de hojas de guayabo Criolla Roja, Brasileira y Tamare indica que el insecticida demuestra mayor persistencia en el orden siguiente: Brasileira > Tamare > Criolla Roja ($P < 0,01$). Este resultado posiblemente se pueda atribuir a la variabilidad genética de los tipos de guayabo Criolla Roja, Tamare y Brasileira. Esta variabilidad ya ha sido verificada por Molero, *et al.* (2003) en las poblaciones de guayabo establecidas en el municipio Mara del estado Zulia, de donde provienen las plantas utilizadas en esta investigación, y que también ha sido corroborada por Sánchez *et al.* (2007); sin embargo, el comportamiento de la

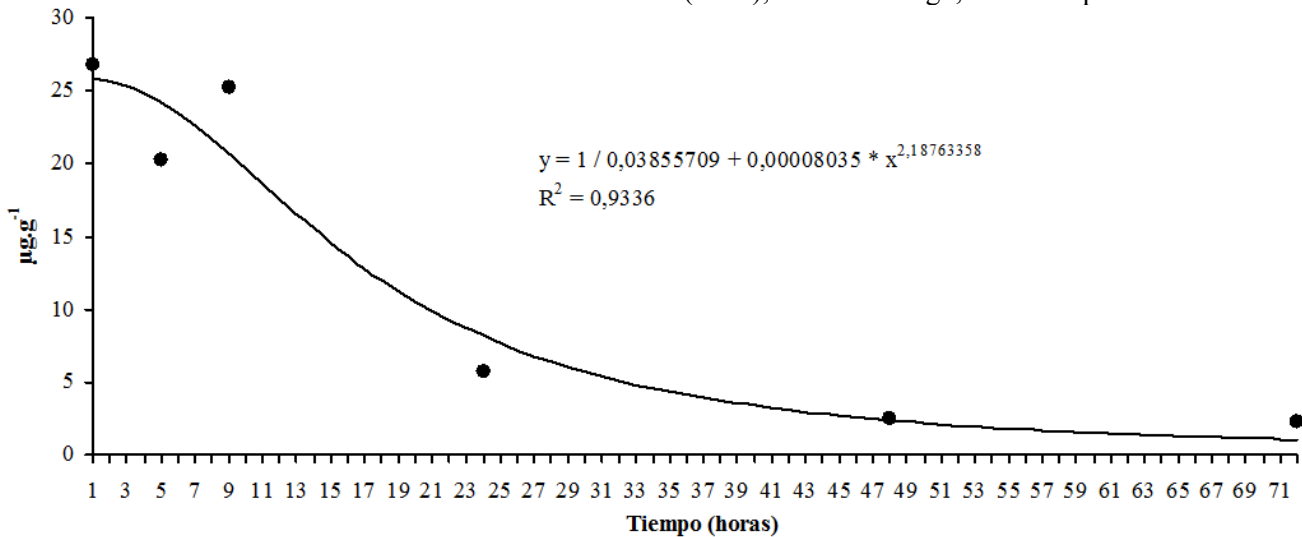


Figura 2. Disminución de la concentración de residuos de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Brasileira.

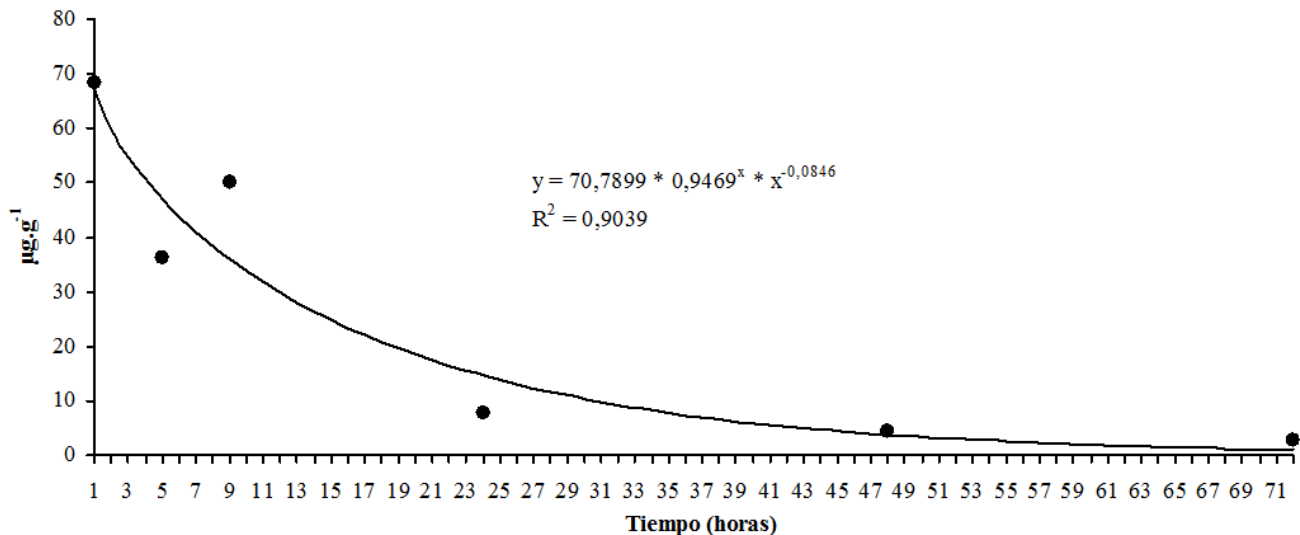


Figura 3. Disminución de la concentración de residuos de Clorpirifos en hojas de guayabo del tipo Tamare.

disipación de Clorpirifos en los tres tipos de guayabo fue similar, con cinéticas de disipación de primer orden.

En el cuadro 2 se presentan los valores de concentración residual de Clorpirifos correspondientes a las muestras de tallo, que fueron determinados en el tiempo, luego de la aplicación del insecticida a las plantas de guayabo Criolla Roja, Brasileira y Tamare. Se aprecian comportamientos de la disipación del Clorpirifos muy similares a los observados en las muestras de hoja, para todos los tipos de guayabo.

La concentración residual de Clorpirifos una hora después de la aplicación en las muestras de tallo de Criolla Roja fue de 41,80 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y de 13,52 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en la quinta hora (100,00% y 32,34%, respectivamente), observándose una reducción de 28,28 μg , lo que representa una disipación del

67,66%. En la novena hora de muestreo nuevamente se observa un incremento inesperado (7,65 μg más) con respecto a la quinta hora (21,17 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), lo que hace suponer que en muestras de tallos el comportamiento del insecticida el primer día de muestreo se ve afectado también por el poder de penetración del Clorpirifos en el tejido de las muestras (Sánchez *et al.*, 2005).

La disipación de Clorpirifos en los tallos de guayabo Criolla Roja fue en aumento progresivo después del primer día luego de su aplicación, con porcentajes de 89,16%, 94,02% y 94,88%, los días uno, dos y tres, respectivamente. La figura 4 presenta el comportamiento de la concentración residual de Clorpirifos en el tiempo en muestra de tallos de guayabo Criolla Roja. El mejor ajuste de los datos para este comportamiento se obtuvo con el modelo de Hoerl (Hyams, 2010) y la ecuación obtenida es: $y = 42,0890 \times 0,9811^x \times x^{-0,4314}$ con $R^2 = 0,9222$.

Cuadro 2. Residuos de Clorpirifos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y %) en tallos de guayabo (*Psidium guajava* L.).

Horas después de de aplicación	Tipo de guayabo								
	Criolla Roja			Brasileira			Tamare		
	\bar{X}	(DER)	%	\bar{X}	(DER)	%	\bar{X}	(DER)	%
1	41,80	(1,99)	100,00	11,24	(0,29)	100,00	47,28	(1,27)	100,00
5	13,52	(0,38)	32,34	4,94	(0,07)	43,95	17,81	(2,00)	37,67
9	21,17	(0,42)	50,65	6,55	(0,16)	58,27	32,91	(0,78)	69,61
24	4,53	(0,32)	10,84	2,41	(0,070)	21,44	6,21	(0,26)	13,13
48	2,50	(0,02)	5,98	0,89	(0,01)	7,92	3,08	(0,05)	6,51
72	2,14	(0,04)	5,12	0,79	(0,01)	7,03	2,50	(0,03)	5,29

\bar{X} (DER): Media y desviación estándar relativa expresada en porcentaje. n = 3

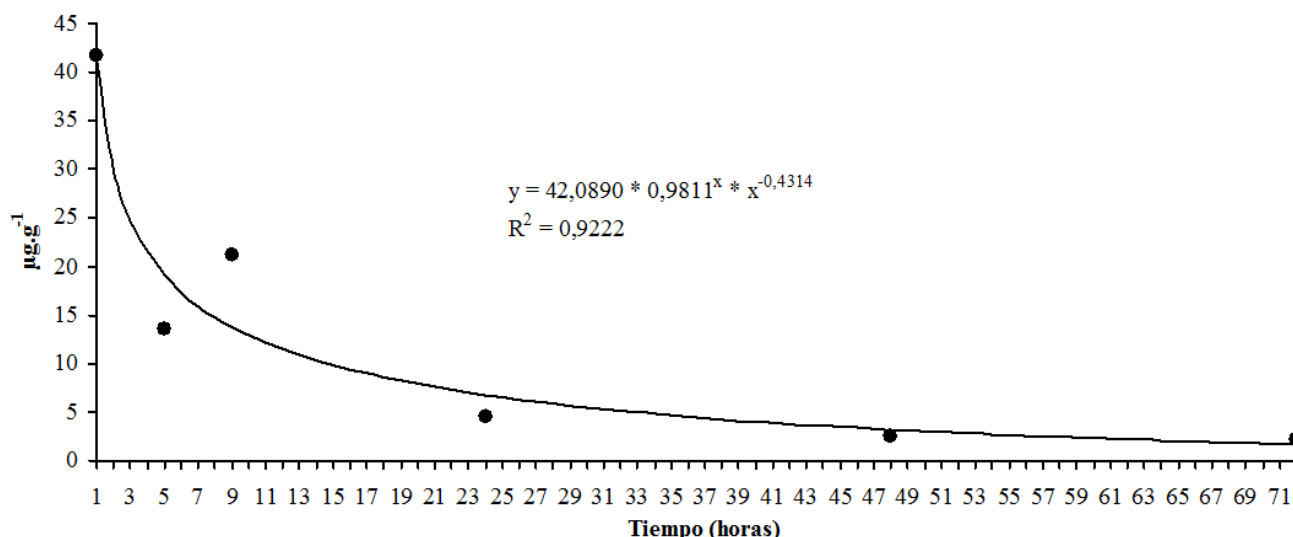


Figura 4. Disminución de la concentración de residuos de Clorpirifos en tallos de guayabo del tipo Criolla Roja.

La velocidad de disipación del insecticida en tallos de guayabo Criolla Roja siguió una cinética de primer orden, con tiempo de vida media de 12,33 horas, mayor que el tiempo de vida media para hojas en este mismo tipo de guayabo, con coeficiente de correlación $r = -0,9021$ ($P < 0,01$), lo que indica que la disipación de Clorpirifos en este tipo de muestra es decreciente y se resume en la siguiente ecuación lineal: $y = -0,0562x + 4,5125$, con coeficiente de determinación igual a 0,8138.

En los tallos de guayabo Brasileira la concentración residual de la primera hora después de la aplicación fue de $11,24 \mu\text{g.g}^{-1}$ y $4,94 \mu\text{g.g}^{-1}$ en la quinta hora (100,00% y 43,95%, respectivamente), produciéndose una reducción de $6,30 \mu\text{g}$, que representa un porcentaje de disipación de 56,05%. En la novena hora se observó, como en los casos anteriores, un incremento en la concentración residual del Clorpirifos en las muestras de tallo de Brasileira de $1,61 \mu\text{g}$, con respecto a la concentración de la quinta hora.

Los días uno, dos y tres el porcentaje de disipación en tallos de Brasileira fue de 78,56%, 92,08% y 92,97% respectivamente. La figura 5 muestra la disipación de Clorpirifos con el tiempo en tallos de guayabo del tipo Brasileira.

El comportamiento de esta disipación se puede explicar matemáticamente de forma más adecuada con el modelo de Hoerl (Hyams, 2010) y la ecuación de ajuste es: $y = 11,3223 \times 0,9777^x \times x^{-0,2886}$, con coeficiente de determinación igual a 0,9388.

La cinética de disipación de Clorpirifos en tallos de Brasileira fue de primer orden, con tiempo de vida media de 13,18 horas, mayor que el obtenido en hojas del mismo tipo de guayabo, con $r = -0,9445$ ($P < 0,01$), indicando una fuerte correlación lineal inversa de la concentración del insecticida con el tiempo. La ecuación lineal que describe la cinética de disipación de Clorpirifos en tallos de guayabo del tipo Brasileira es: $y = -0,0526x + 2,9392$, con $R^2 = 0,892$.

La disipación de Clorpirifos en tallos de guayabo del tipo Tamare muestra el mismo comportamiento observado en Criolla Roja y Brasileira, con un valor de concentración la primera hora después de la aspersión de $47,28 \mu\text{g.g}^{-1}$ (concentración inicial, 100,00%), disminuyendo rápidamente a la quinta hora de muestreo a $17,81 \mu\text{g.g}^{-1}$ (37,67% de la inicial), lo que corresponde a un 62,33% de disipación; nuevamente, a la novena hora se determinó un incremento de la concentración residual de Clorpirifos ($15,1 \mu\text{g}$), en relación a la concentración observada en la quinta hora.

El primer día luego de la aspersión el porcentaje de disipación fue de 86,87%, el segundo día fue de 93,49% y el tercer día de 94,71%, con respecto a la concentración de la primera hora. La figura 6 muestra la reducción en el tiempo de la concentración residual de Clorpirifos en tallos de guayabo Tamare. Este comportamiento se corresponde, según el análisis de regresión realizado con el software de Hyams (2010), al modelo de Hoerl y la ecuación matemática que aporta el mejor ajuste ($R^2 = 0,8483$) de los datos es: $y = 47,6833 \times 0,9684^x \times x^{-0,2454}$.

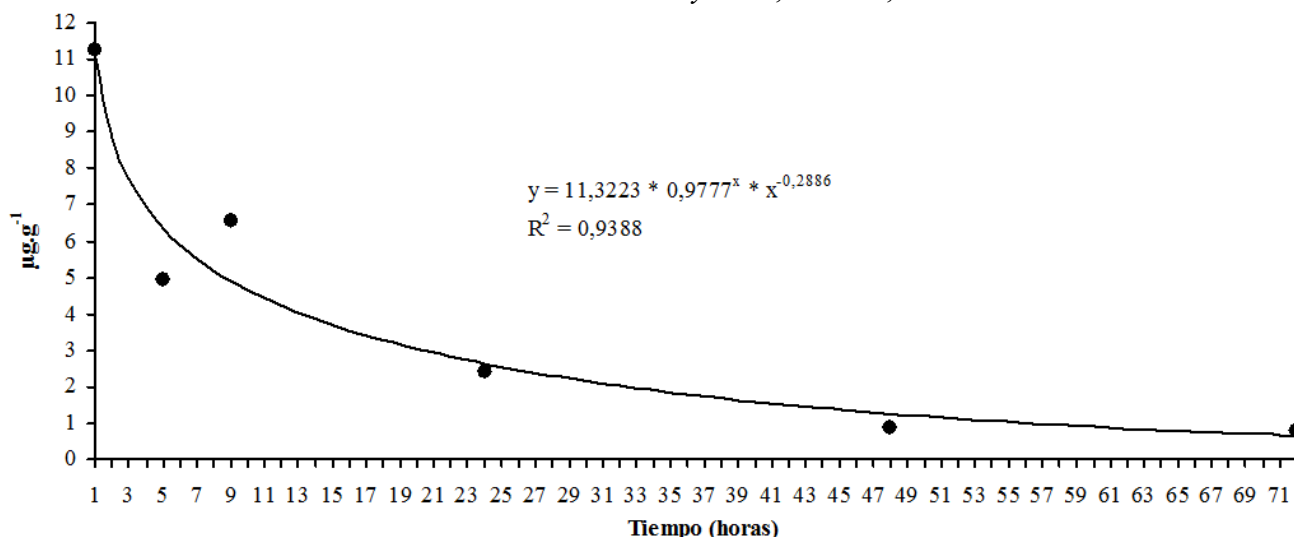


Figura 5. Disminución de la concentración de residuos de Clorpirifos en tallos de guayabo del tipo Brasileira.

La cinética de disipación de Clorpirifos en tallos de Tamare fue determinada como de primer orden, con tiempo de vida media de 11,87 horas, resultando mayor que en hojas, y con un coeficiente de correlación $r = -0,9177$ ($P < 0,01$), correspondiéndose con la ecuación lineal: $y = -0,0584 + 4,936x$ y $R^2 = 0,8422$.

El tiempo de vida media en la disipación de Clorpirifos en los tallos de guayabo del tipo Brasileira resultó mayor que el de Criolla Roja y el de Tamare y, a su vez, el de Criolla Roja mayor que el de Tamare ($P < 0,01$), lo que puede representarse con la siguiente desigualdad: Brasileira > Criolla roja > Tamare. Este resultado en tallos, al igual que en el caso de hojas, posiblemente sea consecuencia de la variabilidad genética ya mencionada por Molero, *et al.* (2003) y por Sánchez *et al.*, (2007). Por otra parte, el tiempo promedio de vida media de Clorpirifos en tallos (12,46 horas) resultó significativamente mayor ($P < 0,01$) que el observado en hojas (10,83 horas), esto posiblemente pueda deberse a que gran parte de los tallos de la planta de guayabo están cubiertos y protegidos por las hojas, lo que ocasiona que la exposición al sol sea indirecta y, por lo tanto, la incidencia de los rayos solares menor, retardándose la disipación del insecticida por efectos de volatilización y fotodegradación. Como indican Lartiges y Garrigues (1995), Kumar *et al.*, (2007) y Badii y Landeros, (2007) el comportamiento, persistencia y degradación de los insecticidas está influido por muchos factores, ambientales y de otra índole, entre los que destacan la temperatura ambiental, la humedad, el pH, la composición química del insecticida, las partículas presentes en el medio, la luz, biodegradación por sistemas microbianos, entre

otros. La temperatura ambiental y la humedad son los factores más influyentes en la degradación de Clorpirifos en muestras de suelo, indica Castro (2002), así mismo, indica que el 50% de la cantidad de Endosulfan aplicada a hojas de tomate se volatilizó en apenas 48 horas, lo que demuestra la influencia de la presión de vapor del insecticida en su degradación y la existencia de emisiones a la atmósfera del insecticida en las zonas donde se aplica.

Es posible también que la rugosidad de la superficie de los tallos en contraposición a la superficie más lisa de las hojas (haz), que además presentan una capa de cera cuticular (lípidos solubles cuticulares), sea otra de las razones por las cuales el Clorpirifos en los tallos presente mayor tiempo de vida media y se aprecie una disipación más lenta de los residuos del insecticida en los tallos de todos los tipos de guayabo. Se conoce que la rugosidad de la superficie, así como la presencia de pelos o tricomas y otros tipos de protuberancias observables en los tallos, aumentan la retención del insecticida y que la cera epicuticular de las hojas desfavorece la retención (Dale, 2007). El límite máximo de residuos (LMRs) indicado por el Codex Alimentarius para guayaba es $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y el nivel crítico de ingestión diaria admisible (IDA) $0,010 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FAO/OMS. CODEX ALIMENTARIUS. 1993). Tanto en las muestras de hojas como en las de tallos de todos los tipos de guayabo las concentraciones residuales de Clorpirifos, incluso hasta el tercer día, fueron muy superiores al IDA y al LMRs de la FAO/OMS. Las concentraciones de Clorpirifos al tercer día para hojas de Criolla Roja, Brasileira y Tamare fueron 1,03, 1,77 y $2,30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ mayores, respectivamente, que el LMRs del Codex Alimentarius, y las de tallo fueron 1,64, 0,29 y $2,00 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

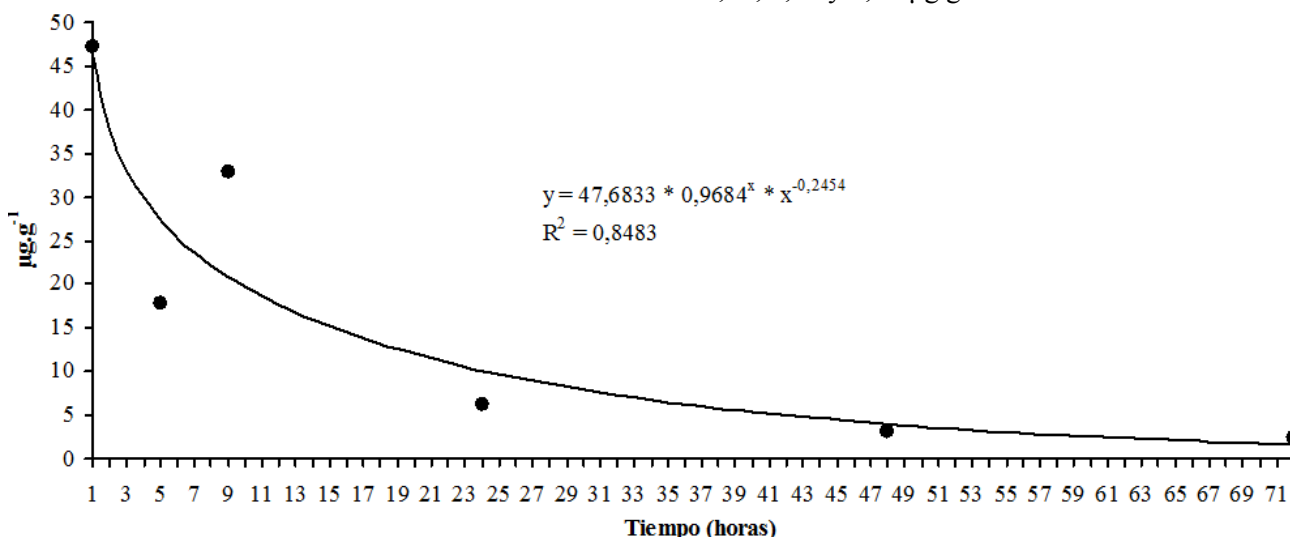


Figura 6. Disminución de la concentración de residuos de Clorpirifos en tallos de guayabo del tipo Tamare.

Comparando las concentraciones residuales de Clorpirifos para el tercer día, en las muestras de hojas y tallos de los tres tipos de guayabo estudiados, con el valor reportado por Sánchez *et al.*, (2005), determinado en frutos de guayabo, que fue de 0,027 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, al tercer día de disipación, se observa una reducción aparentemente mucho más acelerada de la concentración de Clorpirifos en los frutos que en las hojas y tallos de guayabo. El tiempo de vida media obtenido para Clorpirifos por Sánchez *et al.* (2005) fue de 2,32 días (55,68 horas), que contrasta notablemente con los obtenidos en esta investigación, que estuvieron en todos los casos por debajo de las 15 horas, probablemente debido a que en el ensayo de Sánchez la disipación del Clorpirifos se evaluó hasta el día once, lo que posibilitó la acción de los factores ambientales: luz solar, lluvia, humedad relativa, temperatura, así como la actividad de microorganismos cuyas enzimas pueden modificar la estructura química del insecticida (Dale 2007; Kumar *et al.*, 2007). Khan (2005) obtuvo concentraciones residuales de Clorpirifos que variaron entre 1,60 y 2,39 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (según el método de cuantificación HPTLC o HPLC y el período de estudio) para el tercer día de disipación, en muestras de melocotón y entre 2,08 y 3,24 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en muestras de manzana, valores estos superiores al LMR del Codex Alimentarius y que no fueron muy diferentes a los determinados en esta investigación. Khan (2005) también estudió la disipación en guayaba y obtuvo concentraciones residuales de otros insecticidas organofosforados que variaron según el método de cuantificación (HPTLC o HPLC), el período de estudio y la composición química del insecticida, para el tercer día de disipación, entre 1,20 y 2,21 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, igualmente superiores al LMR del Codex Alimentarius.

Según estos resultados, tres días después de la aplicación de Clorpirifos no es un tiempo de espera suficiente para utilizar las hojas y tallos de guayabo de cualquiera de los tipos estudiados (Criolla Roja, Brasileira o Tamare) con la seguridad de que no posean concentraciones de residuos de Clorpirifos a niveles que se puedan considerar por el Codex Alimentarius como inocuos para la salud humana.

CONCLUSIONES

La cinética de disipación de Clorpirifos tanto en hojas como en tallos, para los tres tipos de guayabo Criolla Roja, Brasileira y Tamare, ocurre en forma lineal decreciente con respecto al tiempo, después de

la aplicación del insecticida, por lo que puede establecerse como de primer orden.

El tiempo de vida media de Clorpirifos es mayor en tallos (12,46 horas) que en hojas (10,83 horas) de guayabo.

La secuencia de disipación del Clorpirifos en hojas es Brasileira (12,47 horas) > Tamare (10,60 horas) > Criolla Roja (9,42 horas).

La secuencia de disipación del Clorpirifos en tallos es Brasileira (13,18 horas) > Criolla Roja (12,33 horas) > Tamare (11,87 horas).

Tres días no es un tiempo de espera suficiente para la utilización de hojas y tallos de guayabo en los que se haya aplicado Clorpirifos a la dosis recomendada por el fabricante.

LITERATURA CITADA

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 1997. Clorpirifos. CAS # 2921-88-2. <http://www.atsdr.cdc.gov/es/>. (Consultado el 07 de Noviembre de 2010).
- Almeida, C. E.; M. G. O. Karnikowski, R. Foletto and B. Baldisserotto. 1995. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. *Rev. Saúde Pública* 29 (6): 428-433.
- Arenas de M., L.; M. Marín, D. Peña, E. Toyo y L. Sandoval. 1999. Contenido de humedad, materia seca y cenizas totales en guayabas (*Psidium guajava* L.) cosechadas en granjas del municipio Mara del estado Zulia. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 16 (1): 1-10.
- Badii, M. H. y J. Landeros. 2007. Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT. Toxicología de Plaguicidas* 4 (19): 21-34.
- Badii, M. H. y S. Varela. 2008. Insecticidas Organofosforados: Efectos sobre la Salud y el Ambiente. *CULCyT. Toxicología de Insecticidas*. 5 (28): 5-17.
- Begum, S.; S. I. Hassan, B. S. Siddiqui, F. Shaheen, M. N. Ghayur and A. H. Gilani. 2002. Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. *Phytochemistry* 61 (4): 399-403.

- Camacho M., J.; P. Güerere P. y M. Quirós de G. 2002. Insectos y ácaros del guayabo (*Psidium guajava* L.) en plantaciones comerciales del estado Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 19 (2): 140-148.
- Cermeli, M. y F. Geraud-Pouey. 1997. *Capulinia* sp. cercana a *jaboticabae* von Ihering (Hemiptera: coccoidea, eriococcidea) nueva plaga del guayabo en Venezuela. Agronomía Tropical 47 (1): 125-126.
- Chirinos, D. T.; F. Geraud-Pouey, L. Bastidas, M. García y Y. Sánchez. 2007. Efecto de algunos insecticidas sobre la mota blanca del guayabo, *Capulinia* sp. (Hemiptera: Eriococcidae). Interciencia 32 (8): 547-553.
- Chirinos-Torres, L.; F. Geraud-Pouey, D. Chirinos, C. Fernández, N. Guerrero, M. Polanco, G. Fernández y R. Fuenmayor. 2000. Efecto de insecticidas sobre *Capulinia* sp. cercana a *jaboticabae* von Ihering (Hemiptera: Eriococcidae) y sus enemigos naturales en el municipio Mara, estado Zulia, Venezuela. Bol Entomol Venez. 15 (1): 1-16.
- Castro J., J. 2002. Determinación, persistencia y distribución de insecticidas de uso agrícola en el medio ambiente. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. España. 176 p. http://jcastrojimenez.net/web_documents/PhD%20thesis%20JCJ.pdf (Consultado el 15 de Noviembre de 2010).
- Conde Garcia, E. A.; V. T. Nascimento and A. B. Santiago Santos. 2003. Inotropic effects of extracts of *Psidium guajava* L. (guava) leaves on the guinea pig atrium. Braz J Med Biol Res. 36(5): 661-668.
- Dale, W. E. 2007. Toxicología insecticidas. Penetración residuos y su manejo, tolerancia, generalidades sobre metabolismo insecticidas. Versión 01.T05. http://www.lamolina.edu.pe/profesores/wdale/tox_insect/TOXICOLOG%CDA%20INSECTICIDAS.%20PENETRACI%D3N,%20RESIDUOS%20Y%20SU%20MANEJO,%20TOLERANCIA,%20%20GENERALIDADES%20SOBRE%20MET.pdf. (Consultado el 15 de Noviembre de 2010).
- Dow AgroSciences. 2003. LORSBAN 480 CE. Hoja de manejo seguro. http://www.dowagro.com/PublishedLiterature/dh_0047/0901b80380047281.pdf?filepath=mx/pdfs/noreg/013-20119.pdf&from
- Page=GetDoc. (Consultado el 08 de Noviembre de 2010).
- Ettiene, G.; S. Ortega, D. Medina, J. Sepúlveda, I. Buscema and L. Sandoval. 2005. Persistence of diazinon, malathion, and parathion in coriander (*Coriandrum sativum* L.), cultivated in Barbacoas. Trop. Agric. (Trinidad) 82 (4): 343-348.
- Ettiene, G.; S. Ortega, J. Sepúlveda, D. Medina, I. Buscema and L. Sandoval. 2006. Dissipation of organophosphorus pesticides in green onion (*Allium fistulosum* L.), cultivated in forced system called "Barbacoas". Bull. Environ. Contam. Toxicol. 76: 415-421.
- Ettiene, G.; P. García, R. Bauza, D. Medina y L. Sandoval. 2010. Validación de un método para la determinación de insecticidas organofosforados en hojas y tallos de guayabo (*Psidium guajava* L.), usando extracción ultrasónica y limpieza en fase sólida. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 27 (1): 88-111.
- FAO/OMS. CODEX ALIMENTARIUS. 1993. Residuos de Plaguicidas en Alimentos. Programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. Vol 2.
- Geraud-Pouey, F.; D. T. Chirinos y G. Romay. 2001. Efecto físico de las exfoliaciones de la corteza del guayabo (*Psidium guajava*) sobre *Capulinia* sp. cercana a *jaboticabae* von Ihering (Hemiptera: Eriococcidae). Entomotropica 16 (1): 21-27.
- Geraud-Pouey, F. y D. Chirinos. 1999. Desarrollo poblacional de la mota blanca, *Capulinia* sp. (Hemiptera: Eriococcidae) sobre tres especies de *Psidium guajava* bajo condiciones de laboratorio. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 16 (Suplemento 1): 23-29.
- Hyams, D. G. 2010. CurveExpert software. <http://www.curveexpert.net>. (Consultado el 11 de Noviembre de 2010).
- Jaiarj, P.; P. Khoohaswan, Y. Wongkrajang, P. Peungvicha, P. Suriyawong, M. L. Sumal Saraya and O. Ruangsomboon. 1999. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. J. Ethnopharmacol. 67 (2): 203-212.
- Khan, B. A. 2005. Studies on the residues of commonly used insecticides on fruits and vegetables grown in NWFP-Pakistan. Thesis for the degree of

- Doctor of Philosophy (Ph.D.) in Agriculture (Agricultural Chemistry). NWFP Agricultural University Peshawar. Pakistan. 193 p.
- Kumar Bhagobaty, R.; S. Ram Joshi and A. Malik. 2007. Microbial degradation of organophosphorous pesticide: Chlorpyrifos (Mini-Review). The Internet Journal of Microbiology. 4 (1). 13p.
- Laguado, N.; E. Pérez y C. Alvarado. 1999. Características físico-químicas y fisiológicas de frutos de guayaba de los tipos Criolla Roja y San Miguel procedentes de dos plantaciones comerciales. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 16 (4): 382-397.
- Lartiges, S. B. and P. P. Garrigues. 1995. Degradation kinetics of organophosphorus and organonitrogen pesticides in different water under various environmental conditions. Environ. Sci. Technol. 29: 1246-1254.
- Liapis, K. S.; G. E. Miliadis and P. Aplada-Sarlis. 1994. Persistence of monocrotophos residues in greenhouse tomatoes. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 53: 303-308.
- Lozoya, X.; H. Reyes Morales, M. A. Chávez Soto, M. C. Martínez García, Y. Soto González and S. V. Doubova. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. J. Ethnopharmacol. 83 (1-2): 19-24.
- Lozoya, X.; M. Meckes, M. Abou-Zaid, J. Tortoriello, C. Nozzolillo and J. T. Arnason. 1994. Quercetin glycosides in *Psidium guajava* L. leaves and determination of a spasmolytic principle. Arch Med Res. 25 (1): 11-15.
- Lutterodt, G. D. and A. Maleque. 1988. Effects on mice locomotor activity of a narcotic-like principle from *Psidium guajava* leaves. J. Ethnopharmacol. 24 (2-3): 219-231.
- Medina B., M. L. y F. Pagano G. 2003. Caracterización de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) tipo "Criolla Roja". Rev. Fac. Agron. (LUZ) 20 (1): 72-86.
- Molero, T.; J. Molina y A. Casassa-Padrón. 2003. Descripción morfológica de selecciones de *Psidium guajava* L. tolerantes y *Psidium friedrichsthalianum* (Berg.) Nied resistente a *Meloidogyne incognita* en el estado Zulia, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 20 (4): 478-492.
- Oh, W. K.; C. H. Lee, M. S. Lee, E. Y. Bae, C. B. Sohn, H. Oh, B. Y. Kim and J. S. Ahn. 2005. Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. Journal of Ethnopharmacology 96 (3): 411-415.
- Ojewole, J. A. O. 2005. Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 27 (10): 689-695.
- Pérez Gutiérrez, R. M.; S. Mitchell and R. Vargas-Solis. 2008. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 117 (1): 1-27.
- Rendiles O., E.; M. Marín L.; C. Castro de R. y O. Ferrer M. 2004. Variación en la concentración foliar del guayabo (*Psidium guajava* L.) y su relación con el rendimiento del cultivo. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 21 (1): 36-50.
- Sánchez, J.; G. Ettiene, I. Buscema y D. Medina. 2005. Persistencia de los insecticidas organofosforados Malathion y Chlorpiryphos en guayaba (*Psidium guajava* L.). Rev. Fac. Agron. (LUZ) 22 (1): 62-71.
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. Colmenares, B. Bracho, J. Ortega, G. Rivero, G. Gutiérrez y J. Paz. 2007. Caracterización morfológica del fruto en variantes de guayabo (*Psidium guajava* L.) en una finca del municipio Mara, estado Zulia. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 24 (2): 282-302.
- Shaheen, H. M.; B. H. Ali, A. A. Alqarawi and A. K. Bashir. 2000. Effect of *Psidium guajava* leaves on some aspects of the central nervous system in mice. Phytotherapy Research 14 (2): 107-111.
- Vargas-Álvarez, D.; M. Soto-Hernández, V. A. González-Hernández, E. Mark Engleman y Á. Martínez-Garza. 2006. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). AGROCIENCIA 40 (1): 109-115.
- Vargas M., R. y A. Ubillo F. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. Agric. Téc. 61 (1): 35-41.