GUÍA DE PROCEDIMIENTOS PARA LA EVALUACIÓN AMBIENTAL PARA REGISTRO DE PLAGUICIDAS MICROBIOLÓGICOS DE USO AGRÍCOLA

Versión 1

UEAA, mayo, 2021

+506 2257-1839 digeca@minae.go.cr www.digeca.go.cr Digeca Costa Rica
10104-1000 San José Avenida 18, calle 9 y 9 bis, #935, San José

Contenido

Antecedentes y marco regulatorio 1
Generalidades 2
Procedimiento de evaluación 3
1. Parte I: Revisión y extracción de información del expediente - 3
2. Parte II - Evaluación de peligrosidad y riesgo ambiental (ERA) 6
2.1 Evaluación de riesgo para organismos acuáticos 7
2.2 Evaluación de riesgo para aves 8
2.3 Evaluación de riesgo para abejas 10
2.3.1 Evaluación para la exposición por vía oral 10
2.3.2 Evaluación para la exposición por contacto 11
3. Opciones de refinamiento para niveles superiores de evaluación 12
4. Medidas de mitigación. 13
4.1 Para organismos acuáticos (y en general el recurso hídrico): 14
4.2 Para aves (y otros vertebrados terrestres): 15
4.3 Para abejas (y otros insectos benéficos): 16
Anexo 1. Ejemplo de aplicación de los criterios de evaluación. 17
Anexo 2. Estimación de los datos requeridos para el cálculo de la exposición para abejas. 18

NOTA: el presente documento corresponde al procedimiento interno aplicado por funcionarios de DIGECA-MINAE para la evaluación ambiental de plaguicidas microbiológicos. Esto no representa ningún requisito ni trámite para los administrados, adicional a lo que ya contempla la normativa oficialmente aprobada para los efectos.

Antecedentes y marco regulatorio

Para efectos de registro de plaguicidas microbiológicos, en Costa Rica rigen los Decreto Ejecutivos: N° 37561-MAG-MEIC-COMEX "Publica Resolución N° 297-2012 (COMIECO-LXIV) de fecha 11 de diciembre de 2012 y su Anexo: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 65:05.61:11 Plaguicidas Microbiológicos de Uso Agrícola. Requisitos para el registro" y el N° 40793-MAG-MEIC-COMEX" Publica Resolución N° 383 (COMIECO-EX) del 27 de abril del 2017 y su Anexo "Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 65.05.61:16 Plaguicidas microbiológicos de uso agrícola. Requisitos para el registro". según corresponda a la fecha de solicitud de registro[1]. Dichos reglamentos definen, en términos generales, los criterios de registro de este tipo de insumos agrícolas; sin embargo, el procedimiento de evaluación de los requisitos presentados por las empresas registrantes, deberá desarrollarse a lo interno de cada entidad responsable, a saber: Ministerio del Ambiente y Energía, Ministerio de Salud y el Servicio Fitosanitario del Estado.

Por parte del MINAE, el 15 de marzo de 2007, el entonces ministro de Ambiente y Energía, Dr. Roberto Dobles Mora, mediante el oficio DM-264-2007 designó a la Dirección de Gestión de Calidad Ambiental (en adelante DIGECA), para emitir los criterios técnicos y dictámenes que correspondan de conformidad con el "Reglamento sobre Registro, Uso y Control de Plaguicidas Sintéticos Formulados, Ingrediente Activo Grado Técnico, Coadyuvantes y Sustancias Afines de Uso Agrícola". Esta designación se ha aplicado de manera extensiva a todos los trámites que se refieran al registro de agroinsumos, incluidos los plaguicidas microbiológicos.

[1] *Las solicitudes de registro de productos microbiológicos que se hubiesen iniciado con el Decreto Ejecutivo Número: 37561-MAG-MEIC-COMEX "Publica Resolución N° 297-2012 (COMIECO-LXIV) de fecha 11 de diciembre de 2012 y su Anexo: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 65:05.61:11 Plaguicidas Microbiológicos de Uso Agrícola. Requisitos para el Registro", se continuarán tramitando con este reglamento hasta su finalización. Asimismo, el administrado podrá solicitar la tramitación de la solicitud de registro, bajo las modalidades, requisitos y procedimientos establecidos en el Decreto Ejecutivo N° 40793-MAG-MEIC-COMEX "Publica Resolución N° 383 (COMIECO-EX) del 27 de abril del 2017 y su Anexo "Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 65.05.61:16 Plaguicidas microbiológicos de uso agrícola. Requisitos para el registro".*

En atención a esto, la revisión de los aspectos ambientales de expedientes para registro de plaguicidas microbiológicos de uso agrícola es una de las tareas que tiene asignada la DIGECA, mediante la Unidad de Evaluación Ambiental de Agroinsumos, en adelante UEAA
El objetivo de esta guía es presentar el procedimiento interno que debe seguir un analista ambiental de la UEAA, al momento de realizar la revisión de los plaguicidas microbiológicos, de forma que exista una estandarización interna. Es importante recalcar que dicho instrumento es generado a partir de lo que establece la normativa vigente vinculante y no incluye ningún requisito adicional para el administrado. Como un principio de trasparencia, dicha guía estará disponible para los administrados en la página web de DIGECA (http://www.digeca.go.cr/areas/plaguicidas), con el propósito que conozcan de previo la metodología.

Generalidades

Para efectos de la presente guía, se entenderá por plaguicida microbiológico aquellos productos formulados que contienen una entidad microbiológica (bacteria, hongo, virus o protozoo) utilizada para el control de plagas. Este tipo de productos a base de organismos vivos conlleva una evaluación ambiental.

De previo a desarrollar las diferentes secciones de esta evaluación, es necesario citar algunas abreviaturas importantes que serán utilizadas en el proceso de revisión según se cita continuación.

Cuadro 1. Abreviaturas

Siglas/ abreviaturas	Término en español	Término en inglés
CE	Consumo esperado	
CL_{50} ó LC_{50}	Concentración letal media	Lethal concentration 50 (LC_{50})
CP_{ave}	Consumo del producto esperado por ave	
DA	Dosis de aplicación	Application rate
DL_{50}:	dosis letal media	Lethal dose 50
DT_{50}:	vida media	Half live
EC_{50}	Concentración efecto	Effect concentration 50
EFSA	Autoridad Europea de seguridad Alimentaria	European Food Safety Authority
EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América	Environment Protection Agency

Siglas/ abreviaturas	Término en español	Término en inglés
ERA:	Evaluación de riesgo ambiental	Environmental risk assessment; Ecological risk assessment
ETE	Exposición teórica estimada	Predicted environmental concentration (PEC)
LOEC:	Concentración con efecto más baja observada (por sus siglas en inglés)	Low observed effect concentration
MINAE:	Ministerio de Ambiente y Energía	--
N_{ap}	número de aplicaciones al año o ciclo	Application number
NOEL	Nivel de efecto no observable (por sus siglas en inglés)	No observed effect level
NOEC:	concentración de efecto no observable (por sus siglas en inglés)	No observed effect concentration
pc:	peso corporal	Bw: body weight
RQ:	coeficiente de riesgo	TER: Toxicity Exposure Ratio ETR: Exposure Toxicity Ratio HQ: Hazard quotient
UFC	Unidades Formadoras de Colonia	CFU

Procedimiento de evaluación

La evaluación contiene dos partes: la parte I, denominada "*Revisión y extracción de información del expediente*", la cual como su nombre lo indica, consiste en revisar y extraer información del expediente, e incluye la verificación de dicha información con otras fuentes de información, con el objetivo de tener certeza que lo que se ha indicado cuenta con el sustento técnico-científico. Una vez superada esta fase, se pasa a la parte II denominada "*Evaluación de peligrosidad y riesgo ambiental (ERA)*", para lo cual se utilizan los datos extraídos de la parte I, la cual consiste en realizar una serie de ecuaciones que determinaran la peligrosidad y riesgo del plaguicida microbiológico. A continuación, se desarrollan ambas secciones.

1. ***Parte I: Revisión y extracción de información del expediente -***

En primera instancia, en esta etapa se deberá extraer información que la UEAA ha considerado relevante para llevar a cabo la evaluación ambiental, la cual es extraída de

conformidad con los requisitos que establece el reglamento que sustenta la solicitud, de forma tal que se pueda determinar que la información presentada cumpla con lo establecido.

Los requisitos que se deben recabar y constatar son:

- Datos del producto (formulario de solicitud, anexo I): se extraen los datos básicos sobre el producto que se quiere registrar. Estos datos deben ser congruentes en los otros documentos dentro el expediente.
  a) Marca/Producto
  b) Clase
  c) Tipo de formulación
  d) Formulador

- Certificado de composición del producto (numeral 5.1.c): se extraen los datos de la entidad microbiológica e ingredientes inertes contenidos en el producto, prestando especial atención a las unidades en que se expresa el contenido de la entidad microbiológica. Estos datos deben ser congruentes en los otros documentos dentro el expediente.
  a) Contenido mínimo de la entidad microbiológica.
  b) Contenido máximo de la entidad microbiológica.
  c) Concentración/pureza en % m/m o % m/v.
  d) Porcentaje de viabilidad de la entidad microbiológica.
  e) Nombre común y concentraciones de los ingredientes inertes.

- Información sobre la identidad (numeral 5.2.1 y 5.2.2): se extraen datos técnicos sobre la identidad, origen y ciclo de vida de la entidad microbiológica, necesarios para reconocer características biológicas y ecológicas de esta.
  a) Nombre científico.
  b) Sinónimos.
  c) Clasificación taxonómica.
  d) País de origen de la entidad microbiológica.
  e) Ciclo de vida de la entidad microbiológica.

- Propiedades fisicoquímicas (numeral 5.2.3): se extraen estos datos de características físicoquímicas del producto necesarios para la evaluación ambiental.
  a) Estado físico
  b) Densidad
  c) Solubilidad

- Uso agronómico según panfleto y Resolución de aprobación por parte del SFE de los ensayos de eficacia biológica (numeral 5.2.4.1.v): se extrae esta información de ambos documentos y se compara, ya que se debe verificar que el panfleto contenga los datos tal como fueron aprobados por el SFE. Con base en estos datos, se realizarán los cálculos de la exposición en la parte 2 de este procedimiento.

a) Cultivos
b) Plagas
c) Equipo de aplicación
d) Método de aplicación
e) Dosis y volumen de mezcla
f) Intervalo de aplicación
g) N° máximo de aplicaciones por ciclo

- Información básica, sobre el potencial de los microorganismos para producir efectos adversos, capacidad para colonizar, causar daño, producir toxinas y metabolitos relevantes (numeral 5.2.4.2): la información de esta sección es muy importante para la evaluación ambiental, ya que estos datos permiten estimar el destino ambiental que tendrá el microorganismo una vez liberado, debe contener información científica sobre cómo se comporta el microrganismo sobre los organismos no objetivo (especificidad, capacidad de colonización) y el ambiente abiótico, si produce o no metabolitos o toxinas, su duración y la de sus metabolitos en el ambiente (la capacidad de esporulación, la caracterización de la cepa sobre su degradación), los posibles daños a ocasionar. Es importante que se adjunten los documentos científicos que respaldan las afirmaciones o al menos las referencias científicas para acceder a la información.

- Estudios ecotoxicológicos: Los estudios de laboratorio permitirán obtener información sobre los posibles efectos de la entidad microbiológica en el ambiente, tales como efectos toxicológicos o patogénicos en aves, peces, invertebrados acuáticos, abejas y plantas terrestres y acuáticas. En el cuadro 2, se anotan los estudios que solicita el reglamento, con la guía respectiva que establece el protocolo para la realización de éstos, así como el valor reportado al final del estudio y las unidades de medida que se espera. Se debe notar que es muy importante que los estudios arrojen los resultados en las unidades adecuadas; como son, por ejemplo, que las unidades de medida deben darse en Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por masa o volumen del producto formulado. Si los resultados se expresan en cantidades del producto (mg/l, mg/kg_{pc}) es indispensable que el estudio aclare la concentración de la entidad microbiológica en el producto analizado (UFC/g), para poder relacionarlo con el producto a registrar. Sirva aclarar que, para algunos organismos, una espora puede aceptarse como una UFC.

Cuadro 2. Estudios sobre toxicidad / patogenicidad aguda en organismos no objetivo

Estudio	Guía o protocolo recomendado	Resultados y unidades
Toxicidad y patogenicidad oral en aves	OPPTS 885.4050	NOEC, DL_{50} UFC/kg pc, mg/kg pc o UFC/ml
Toxicidad y patogenicidad en peces de agua dulce o marina	OPPTS 885.4200 y 885.4280	NOEC, CL_{50} mg/l o UFC/ml
Toxicidad y patogenicidad en invertebrados acuáticos	OPPTS 885.4240 y 885.4280	NOEC, EC_{50} mg/l o UFC/ml

Estudio	Guía o protocolo recomendado	Resultados y unidades
Toxicidad/patogenicidad en abejas	OPPTS 885.4380	NOEC, DL_{50} µg/abeja, UFC/abeja, UFC/ml
Toxicidad/patogenicidad en plantas, terrestres y acuáticas, no objetivo del producto	OPPTS 885.4300	NOEC, EC_{50} mg/l o UFC/ml

Es importante recalcar que los resultados de los estudios no se clasifican por su grado de toxicidad o patogenicidad, sino que se utilizan para comparar los resultados con la exposición esperada a organismos no objetivo, a partir de la forma de uso del producto. Esta comparación corresponde a la evaluación de peligrosidad y riesgo ambiental (parte II) que se explicará más adelante y a la cual se procede una vez concluida satisfactoriamente esta primera parte.

En caso que alguno de los requisitos no cumpla o existan contradicciones / inconsistencias, se deberá detallar las razones de su no cumplimiento, para lo cual se deberá emitir un informe técnico en esta etapa, sin pasar a la parte II hasta que se subsane lo requerido.

2. Parte II - Evaluación de peligrosidad y riesgo ambiental (ERA)

Es el análisis técnico que determina la aceptación o no del uso del producto microbiológico desde una perspectiva del potencial de afectación ambiental, basado en los datos descritos en la parte I. Este análisis se hace de forma individual, entiéndanse por cada organismo no objetivo, para lo cual se utilizan ecuaciones que calculan la concentración ambiental esperada para una aplicación o varias aplicaciones según sea el caso.

Así, la concentración ambiental esperada es la cantidad de producto microbiológico a la que se expondrán los organismos en el campo y se obtiene a partir de los resultados de las pruebas de eficacia aprobadas por la AC. Luego, la concentración ambiental esperada se compara con la dosis aplicada en los estudios de toxicidad/patogenicidad y que se reporta en los resultados de cada estudio. Este cálculo se realiza por separado para cada grupo de organismos no objetivo: acuáticos, aves, abejas.

Es importante tener en cuenta que los estudios de toxicidad/patogenicidad se realizan exponiendo a los organismos de prueba a diferentes concentraciones de la entidad microbiológica. Por lo tanto, cuando estas pruebas arrojan resultados de "no preocupación" (no se observan efectos adversos por la exposición al microorganismo para los organismos no objetivo), cabe esperar que no habrá efectos adversos a nivel de campo[2], siempre y cuando la ETE en Costa Rica sea comparable con la dosis aplicada en el estudio de

[2] Adaptado del procedimiento de la EPA (1996). Microbial Pesticide Test Guidelines OPPTS 885.0001 Overview for Microbial Pest Control Agents. EPA 712-C-96-280

toxicidad/patogenicidad. Es decir, el resultado del estudio se extrapola al campo, cuando las dosis son comparables.

Sirva aclarar que en el nivel más básico de la evaluación se considera solo una aplicación, aun cuando el producto se recomiende con varias aplicaciones. Por esto es tan importante contar con información sobre el potencial de colonización o la especificidad de la entidad microbiológica, ya que este dato permitirá validar la premisa de que la población del microorganismo se disminuirá conforme se controle la plaga.

2.1 Evaluación de riesgo para organismos acuáticos

En el caso del análisis para especies acuáticas, se debe estimar la cantidad del microorganismo al que podrían estar expuestos los peces, invertebrados y plantas acuáticas. Para esto, se debe conocer la cantidad de UFC por mg de producto. A partir de este dato, se calcula la concentración ambiental esperada (CAE):

Ecuación 1. Cálculo de la concentración ambiental esperada para una aplicación

$$CAE\ (1Ap, mg\ o\ UFC/l) = \frac{Dosis\ (mg\ o\ UFC/ha)}{Volumen\ (l/ha)}$$

Donde:
CAE (1Ap) = concentración ambiental esperada para una sola aplicación
Volumen = volumen de agua de un estanque estándar[3] (20,000,000 l/ha)

Así, la concentración por aplicación se calcula dividiendo la dosis de aplicación más alta (en mg ó UFC/ha) entre el volumen de agua de un estanque estándar (20,000,000 l/ha) (asumiendo un estanque de una hectárea y 2 metros de profundidad). Si no se tiene información que demuestre que el organismo no coloniza o se propaga, se asume el peor escenario; es decir, se calcula la concentración acumulada, multiplicando la dosis de aplicación por el número de aplicaciones.

Para tener mayor claridad en el cálculo, se da un ejemplo de desglose de las variables con mayor detalle en el cuadro 3 siguiente:

Cuadro 3. Variables incluidas en el cálculo de la concentración ambiental esperada para organismos acuáticos.

Parámetro	Cantidad	Unidad
Dosis	X	mg o UFC /ha
Volumen	20.000.000	l/ha
Concentración por aplicación	X/20000000	Mg o UFC /l
Aplicaciones	N_{ap}	Número de aplicaciones
Concentración acumulada	(X/20000000)*N	mg o UFC /l

[3] Se estima para un estanque de una hectárea con dos metros de profundidad.

Posteriormente, se comparan las concentraciones ambientales esperadas (CAE) con el valor toxicológico derivado de las pruebas de laboratorio (ver ejemplo en anexo 1). Si los resultados (concentración) arrojados en los estudios de laboratorio son mayores que la CAE, se asume que no hay preocupación por la afectación al organismo no objetivo.

La ausencia de preocupación se toma como válida, dado que normalmente los resultados de los estudios de laboratorio son NOEC; es decir, concentraciones a las que no se observaron efectos de toxicidad ni patogenicidad sobre los organismos probados; entonces, si a esa concentración no hubo efectos, no cabe esperar efectos a concentraciones inferiores.

Si las concentraciones ambientales esperadas son mayores a los NOEC o EC_{50}, el caso requiere pasar a un nivel de refinamiento en los cálculos u obtener más información de manera que no quede preocupación ante potenciales efectos adversos al organismo no objetivo que pudieran surgir por la exposición en las condiciones evaluadas; por ejemplo, con datos sobre la especificidad o potencial de propagación del microorganismo.

Cuadro 4. Compare el CAE con el valor de toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio (peces e invertebrados acuáticos) para obtener la conclusión:

RESULTADO	CONCLUSION
CAE > Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	Sí hay preocupación
CAE ≤ Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	No hay preocupación

2.2 Evaluación de riesgo para aves

Para evaluar los efectos potenciales sobre las aves se realiza una estimación de la exposición de las aves, basada en la cantidad o concentración del producto que consume un ave en un día (CP_{ave} en mg ó $UFC/ave_{día}$), en comparación con el valor de toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio (NOEC o NOEL).

Los valores de toxicidad normalmente se dan en unidades de mg/kg peso corporal (pc) por lo se requiere convertir a mg ó $UFC/ave_{día}$ para que sea comparable con el CP_{ave}. Para realizar esta conversión se multiplica el valor de NOEC o NOEL (mg o UFC/Kg_{pc}) por el peso del ave (160 gramos para la codorniz *Colinus virginianus*[4]) y se divide entre 1000 (factor de conversión de Kg_{pc} a g_{pc}) , resultando en unidades de mg/ave_{dia} según la siguiente ecuación**.**

[4] Chumchal, M. 2000. "Colinus virginianus" (On-line), Animal Diversity Web. Accessed June 09, 2021 at https://animaldiversity.org/accounts/Colinus_virginianus/

Ecuación 2. Conversión de unidades de mg/kg$_{pc}$ a mg ó UFC/ave$_{día}$

$$NOEC(mg\ o\ UFC/ave) = \frac{NOEC(mg\ o\ UFC/Kgpc)x\ pc}{1000}$$

Donde,
pc= peso corporal (160 gramos la codorniz *Colinus virginianus*)

Adicionalmente, con el cálculo del CP$_{ave}$ se estima la cantidad del producto que el ave podría consumir en un día de acuerdo con la dosis a aplicar. Este resultado debe coincidir con las unidades del valor toxicológico para que sea comparable. Por esto, se asume que el producto se dispersa en semilla de arroz de la cual la codorniz consume 26 gramos por día[5] y la dosis de siembra de arroz es de 135 kg de semilla de arroz por hectárea[6] según la siguiente ecuación.

Ecuación 3. Cálculo de la cantidad o concentración del producto que consume un ave (CP$_{ave}$) para una aplicación

$$\text{CPave}\ (1Ap, mg\ o\ UFC/ave) = \frac{Dosis\ (mg\ o\ UFC/ha)}{0.135\ (g\ arroz/ha)} x\ 26\ (g\ arroz\ día/ave)$$

Donde:
CP$_{ave}$ (1Ap) = Consumo del producto esperado por ave para una sola aplicación

Entonces, el CP$_{ave}$ se calcula al dividir la dosis de aplicación del producto en mg ó UFC/ha, entre 0.135 g$_{arroz}$/ha, para obtener el valor de mg ó UFC de producto por gramo de arroz.

Finalmente, el CP$_{ave}$ se obtiene por la multiplicación de los mg ó UFC del producto por gramo de arroz, por 26 gramos por día que consume el ave. Este valor (CP$_{ave}$), en unidades de mg ó UFC/ave, se asume como la cantidad de plaguicida que se espera que consuma el ave por día de acuerdo con la dosis de aplicación y se compara con el valor de los estudios de laboratorio convertido a las mismas unidades. El CP$_{ave}$ y el NOEC también se pueden expresar y comparar en unidades de UFC/ave/día. Si no existen datos sobre el potencial de colonización o propagación del microorganismo, se asume el peor escenario; es decir, se calcula la concentración acumulada, multiplicando la dosis de aplicación por el número de aplicaciones.

Si el CP$_{ave}$ no supera el NOEC, o valor determinado en las pruebas de laboratorio, no se presume preocupación por posibles efectos en las aves debidos a la exposición al producto. Si el CP$_{ave}$ es mayor que la concentración arrojada en los estudios de laboratorio, procede

[5] Tomado de: La Nación, Argentina. https://www.lanacion.com.ar/200335-la-codorniz-una-alternativa-de-facil-manejo-y-bajo-costo. Consultado el 14/10/2020

6 Tomado de: INIFAP, San Luis de Potosí, México: http://www.campopotosino.gob.mx/modulos/tecnologiasdesc.php?idt=79 . Consultado el 14/10/2020

un análisis más profundo, considerando datos sobre la especificidad del producto, degradación y colonización u otras informaciones técnicas adicionales que permitan sopesar el riesgo de afectación a las aves.

Cuadro 5. Compare el CP_{ave} con el valor de toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio (aves) para obtener la conclusión:

RESULTADO	CONCLUSION
CP_{ave} > Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	Sí hay preocupación
CP_{ave} ≤ Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	No hay preocupación

2.3 Evaluación de riesgo para abejas

Los estudios de toxicidad/patogenicidad para abejas se pueden presentar tanto para la vía oral como por contacto. Por esta razón, para evaluar los efectos potenciales sobre las abejas se realiza comparando el resultado de la estimación de la cantidad o concentración de producto microbiológico a la que podrían estar expuestos estos organismos por ambas vías (oral o contacto) según la dosis de aplicación, contra los resultados obtenidos en los estudios de toxicidad/patogenicidad. Según sea el caso, se utiliza cada uno de los siguientes procedimientos.

2.3.1 Evaluación para la exposición por vía oral

Para calcular la exposición para abejas por vía oral se utiliza una metodología similar a la que se usa para el cálculo de la exposición para las aves. Se debe estimar la cantidad o concentración de producto microbiológico que podría ingerir una abeja (consumo esperado, CE_{abeja}) a partir de la dosis de aplicación y de la cantidad de abejas que forrajean por hectárea (población estimada de abejas por hectárea), así como la cantidad de flores que éstas pueden forrajear por hectárea, asumiendo que el área de flores, será el área de exposición al producto.

La población de abejas por hectárea dependerá del cultivo y del tamaño de las colmenas; sin embargo, partiendo de que lo que se quiere es estimar la cantidad del microorganismo que cada abeja podría consumir (o recibir por contacto) en el campo luego de una aplicación, se tomó como peor escenario el cultivo de melón donde se estima que la población forrajeando sería de 320,000 abejas/hectárea y que el área floral es de 51m². El detalle de estas estimaciones se encuentra en el anexo 2.

Seguidamente, asumiendo que las abejas consumirían el producto que se deposita únicamente en el área floral después de la aplicación, se calcula la cantidad del producto esperada en el área floral (CAF), mediante la multiplicación la dosis de aplicación (en $\mu g/m^2$) por el área floral (51 m^2). Una vez que se cuenta con la cantidad de producto equivalente al área floral o área de forrajeo de las abejas (CAF) dentro de la hectárea de aplicación, se

obtiene el consumo estimado por abeja (CE_{abeja}), dividiendo la cantidad del producto estimada por área floral entre la población de abejas estimada por hectárea.

Este cálculo se describe en la siguiente ecuación:

Ecuación 4. Estimación del consumo de producto esperado por abeja después de una aplicación

$$CEabeja\ (1Ap, \mu g\ \ o\ UFC/abeja) = \frac{CAF\ (\mu g\ o\ UFC/ha)}{320000\ (abejas/ha)}$$

Donde:

CAF = cantidad del producto esperada en el área floral. Se obtiene de la siguiente fórmula: CAF = Dosis de aplicación (DA(g o UFC/ha)*100) * (51 m^2/ha).

Nota: la dosis de aplicación generalmente es dada en g/ha y se requiere en unidades de µg/m^2, por lo que, para hacer esta conversión se aplica un factor de 100, así, DA(g/ha)*100= DA(µg/m^2).

Si no existen datos sobre el potencial de colonización o propagación del microorganismo, se calcula la concentración acumulada, multiplicando la dosis de aplicación por el número de aplicaciones.

Finalmente, se aplica el mismo razonamiento que se usó en los grupos de organismos anteriores. Si el CE_{abeja} no supera la DL_{50} ó valor determinado en las pruebas de laboratorio, no se espera preocupación por posibles efectos en las abejas debido a la exposición al producto. Si el CE_{abeja} es mayor que la concentración arrojada en los estudios de laboratorio, procede un análisis más profundo, considerando datos sobre la especificidad del producto, degradación y colonización u otras informaciones técnicas adicionales que permitan sopesar el riesgo de afectación a las abejas.

Cuadro 6. Compare el CE_{abeja} con el valor de toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio (abejas-oral) para obtener la conclusión:

RESULTADO	CONCLUSION
CE_{abeja} > Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	Sí hay preocupación
CE_{abeja} ≤ Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	No hay preocupación

2.3.2 Evaluación para la exposición por contacto

En este caso se mantiene el mismo enfoque anterior, en el que se asume una población de abejas por hectárea de 320,000 individuos. Esta sería la cantidad de abejas que podrían estar expuestas al contacto con el producto microbiológico luego de su aplicación en una

hectárea, sin embargo, dado que las abejas no ocupan todo el espacio de la hectárea, se debe estimar el área que corresponde a la superficie cubierta por las abejas. Así, partiendo de que una abeja mide 1 cm^2 y con una población de 320,000 individuos en una hectárea, se obtiene que el área de abejas que podría estar recibiendo la descarga del producto es de 32 m^2/ha.

Luego se calcula la exposición vía contacto (EVC) para las abejas en µg o UFC/ha multiplicando la superficie o área de abejas por la dosis en µg o UFC/ha. A este valor se le aplica un factor de 3 dado que las abejas están en constante movimiento mientras forrajean, por lo que este factor minimiza una posible subestimación. La exposición al producto en términos de µg o UFC/abeja (EVC_{abeja}), se desprende de la multiplicación antes descrita y dividiendo entre el total de abejas, según se desglosa en la ecuación 5.

Ecuación 5. Estimación de la exposición vía contacto para las abejas después de una aplicación

$$EVC\ abeja\ (1Ap, \mu g\ \ o\ UFC/abeja) = \frac{32(m^2/ha)x\ DA(\mu g\ o\ UFC/ha)x\ 3}{320000\ (abejas/ha)}$$

Donde:
DA= Dosis de aplicación

Este resultado se compara con el resultado de la prueba de laboratorio. Si el EVC_{abeja} no supera la DL_{50} ó valor determinado en las pruebas de laboratorio, no se espera preocupación por posibles efectos en las abejas debido a la exposición al producto. Si el EVC_{abeja} es mayor que la concentración arrojada en los estudios de laboratorio, procede un análisis más profundo, considerando datos sobre la especificidad del producto, degradación y colonización u otras informaciones técnicas adicionales que permitan sopesar el riesgo de afectación a las abejas.

Cuadro 7. Compare el EVC_{abeja} con el valor de toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio (abejas contacto) para obtener la conclusión:

RESULTADO	CONCLUSION
EVC_{abeja} > Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	Sí hay preocupación
EVC_{abeja} ≤ Toxicidad/patogenicidad obtenida en el estudio	No hay preocupación

3. Opciones de refinamiento para niveles superiores de evaluación

Con el refinamiento de los cálculos se pretende llevar el análisis a un escenario cada vez más realista. Esto se puede lograr modificando los datos utilizados, basados en la información sobre degradación, especificidad, capacidad de colonización u otra información

técnica disponible. Algunas opciones generales que se pueden utilizar se resumen a continuación:

- Reducir la dosis de aplicación, respetando la dosis mínima aprobada en el ensayo de eficacia biológica.
- Disminuir el número de aplicaciones, respetando el número de aplicaciones mínimo aprobado en el ensayo de eficacia biológica.
- Aumentar el número de días entre una aplicación y la siguiente, de manera que se facilite la degradación del producto en el ambiente y así evitar la acumulación.
- Reanalizar el escenario propuesto: pasar de un escenario conservador (peor escenario) a un escenario más realista. Por ejemplo, que los organismos no objetivo no van a estar presentes en el área de exposición, que la aplicación se realiza en condiciones que reducen la exposición, etc.
- Utilizar nuevos estudios de campo que demuestren que el plaguicida puede ser menos tóxico o con menores posibilidades de exposición.
- Utilizar estudios que demuestren que la concentración o cantidad de residuos en los ambientes evaluados son menores que las que se calculan con esta metodología y que, por tanto, la exposición es menor.
- Obtener estudios realizados bajo los escenarios de Costa Rica, de manera que representen las condiciones reales bajo las cuales se utilizará el plaguicida.

El refinamiento deberá realizarse respetando la eficacia agronómica que está respaldada en el ensayo correspondiente, previamente aprobado por la Unidad correspondiente del SFE. Así mismo, todas las condiciones y recomendaciones que se desprendan de esta evaluación (incluyendo la modificación el patrón de uso del producto o medidas de mitigación o monitoreo en campo) deberán incluirse en la etiqueta o panfleto del producto.

Este proceso finaliza cuando se obtiene un resultado de riesgo aceptable para todos los organismos no objetivo estudiados y se emite un criterio ambiental positivo; o en el peor de los casos, cuando a pesar de los esfuerzos de refinamiento realizados, no se logre reducir el riesgo manteniendo la eficacia del producto. En este último caso, se emite un criterio ambiental negativo.

4. Medidas de mitigación.

En el informe de evaluación se indicarán todas las medidas de mitigación de los riesgos ambientales recomendadas y, cuando sea necesario, el MINAE podrá solicitar medidas de protección ambiental, tales como el compromiso de la empresa en caso de que se requiera monitoreo de las afectaciones al ambiente, como consecuencia del uso del producto bajo el

patrón de uso aprobado, así como solicitar que se declare el producto como un plaguicida de uso restringido.

De acuerdo con el grupo de organismos donde se haya identificado un posible riesgo, se indican a continuación algunas medidas que se pueden recomendar, sin ser las únicas posibles.

4.1 *Para organismos acuáticos (y en general el recurso hídrico):*

- Tóxico/patogénico para peces y crustáceos
- Tóxico/patogénico para organismos acuáticos
- No aplique el producto en condiciones climáticas que favorecen la escorrentía o deriva del producto
- Respete las áreas de protección de ríos, quebradas y otras áreas frágiles.
- Asegúrese que las áreas de protección de los causes de agua aledaños al cultivo cuenten con barreras de protección (tales como vegetación) que minimice la deriva del producto.
- En Costa Rica para aplicaciones aéreas acátese el Reglamento para las actividades de la aviación agrícola según Decreto Ejecutivo N° 31520-MS-MAG-MINAE-MOPT-MGPSP y su reforma mediante el Decreto Ejecutivo N° 34202-MS-MAG-MOPT-MGSP, o el reglamento que se encuentre vigente en su lugar.
- Se debe respetar las zonas de amortiguamiento que cumplen con las condiciones establecidas en los reglamentos vigentes en cada país. En el caso de Costa Rica, se debe respetar la Ley Número 7575 "Ley Forestal" y la Ley Número 276 "Ley de Aguas":

Ley 7575 "Ley Forestal": que en su artículo 33 declara áreas de protección las siguientes:

- Las áreas que bordeen nacientes permanentes, definidas en un radio de cien metros medidos de modo horizontal.

- Una franja de quince metros en zona rural y de diez metros en zona urbana, medidas horizontalmente a ambos lados, en las riberas de los ríos, quebradas o arroyos, si el terreno es plano, y de cincuenta metros horizontales, si el terreno es quebrado.

- Una zona de cincuenta metros medida horizontalmente en las riberas de los lagos y embalses naturales y en los lagos o embalses artificiales construidos por el Estado y sus instituciones. Se exceptúan los lagos y embalses artificiales privados.

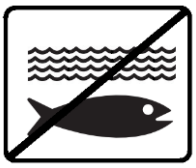
- Las áreas de recarga y los acuíferos de los manantiales, cuyos límites serán determinados por los órganos competentes establecidos en el reglamento de esta ley.

"Ley de Aguas": de acuerdo a su artículo 31 se declaran como reserva de dominio a favor de la Nación:

- Las tierras que circunden los sitios de captación o tomas surtidoras de agua potable, en un perímetro no menor de doscientos metros de radio;

- La zona forestal que protege o debe proteger el conjunto de terrenos en que se produce la infiltración de aguas potables, así como el de los que dan asiento a cuencas hidrográficas y márgenes de depósito, fuentes surtidoras o curso permanente de las mismas aguas.

- Incluir el siguiente pictograma según establece el DE-39676:



4.2 *Para aves (y otros vertebrados terrestres):*

- Peligroso para aves
- Las semillas tratadas con este producto, deberán ser enterradas al suelo utilizando sembradoras de surco (no siembra al voleo).
- Toda semilla tratada con este producto deberá ser cuidadosamente manejada, evitando derrames en los caminos o puntos de recarga de las sembradoras y, si los hay, deberán recogerse o enterrarse inmediatamente para evitar el daño a la avifauna local.
- El producto se podrá aplicar solamente con equipo terrestre, a baja altura sobre el nivel de las plantas, en horas tempranas de la mañana o por la tarde, cuando no haya viento y cuando el sol esté menos caliente, para reducir la evaporación y arrastre del producto por el viento, no aplicar con equipos tipo nebulizador o bombas de espalda de motor. Usar boquillas con ángulos de aplicación menores a los 80º. No utilizar boquillas que producen alta deriva, como las cónicas de alta presión. Trabajar a presiones de aplicación de 3 a 5 bares, evitar las presiones altas, mayores a 5 bares. Utilizar en el tanto de lo posible, boquillas antideriva. De ser posible, utilizar campanas de aplicación en la boquilla.
- Incluir el siguiente pictograma:

4.3 *Para abejas (y otros insectos benéficos):*

- Peligroso para abejas.

✓ Para proteger abejas y otros insectos polinizadores, no aplicar este producto durante la floración del cultivo.

✓ No aplicar cuando las abejas se encuentran forrajeando activamente.

✓ Remover o cubrir las colmenas durante y después de la aplicación de este producto.

✓ No aplicar este producto cuando haya presencia de maleza en floración.

✓ Remover las malezas antes de la floración.

✓ Incluir el siguiente pictograma:

Anexo 1. Ejemplo de aplicación de los criterios de evaluación.

Cuadro 1. Ejemplo de comparación de la concentración ambiental esperada (CAE) para organismos acuáticos según el uso de un producto ficticio

CAE (con la dosis máxima) (mg o UFC/l)	Valor toxicológico o patogénico de comparación (mg ó UFC/l) para los organismos no objetivo	Conclusión
1×10^7 UFC/l	Peces: LC_{50} o NOEC= 1×10^9 UFC/l	No hay preocupación dado que el CAE no supera el valor toxicológico
1×10^7 UFC/l	Daphnias: LC_{50} o NOEC =2×10^9 UFC/l	No hay preocupación dado que el CAE no supera el valor toxicológico
1×10^7 UFC/l	Algas: LC_{50} o NOEC= 3×10^9 UFC/l	No hay preocupación dado que el CAE no supera el valor toxicológico

Cuadro 2. Ejemplo de comparación de la concentración ambiental esperada (CP_{ave}) para aves según el uso de un producto ficticio

CP_{ave} (mg ó UFC/ave) (a partir de la dosis más alta)	Valor de toxicidad/ patogenicidad (mg ó UFC/ave)	Conclusión
1×10^7 UFC/ave	DL_{50} o NOEC= 1×10^9 UFC/ave	No hay preocupación dado que el CP_{ave} no supera el valor toxicológico

Cuadro 3. Ejemplo de comparación de la concentración ambiental esperada (CE_{abeja}) para abejas según el uso de un producto ficticio

CE_{abeja} (µg ó UFC/abeja) (a partir de la dosis más alta)	Valor de toxicidad/patogenicidad ((µg ó UFC/abeja)	Conclusión
1×10^7 UFC/abeja	DL_{50} o NOEC= 1×10^9 UFC/abeja	No hay preocupación dado que el CE_{abeja} no supera el valor toxicológico

Anexo 2. Estimación de los datos requeridos para el cálculo de la exposición para abejas

La población de abejas por hectárea dependerá del cultivo y del tamaño de las colmenas; sin embargo, partiendo de que lo que se quiere es estimar la cantidad del microorganismo que cada abeja podría consumir (o recibir por contacto) en el campo luego de una aplicación, se tomará el peor escenario según la literatura. En este sentido, se adoptó el cultivo de melón, por ser un cultivo que depende de la polinización por abejas (peor escenario) y en este cultivo se espera una población de 4 colmenas de abejas[7]. Además, según los reportes, se asumirá que cada colmena consta de hasta 80 mil abejas[8]. Finalmente, con base en estos datos, la estimación de la población forrajeando sería de 320,000 abejas/ha.

A partir de la dosis de aplicación del producto y de la población de abejas estimadas por hectárea, se puede estimar la concentración de producto por abeja en el campo después de una aplicación; sin embargo, se debe incorporar otras variables, ya que no es razonable esperar que todo el producto aplicado se distribuya o consuma por la población de abejas que se presume que estaría en el campo al momento de la aplicación.

Entonces, para obtener el consumo de producto estimado por abeja (CE_{abeja}) se debe estimar la cantidad de flores por hectárea (área floral) en las que se espera que forrajeen las abejas, asumiendo que las abejas que forrajean en una hectárea de melón, consumirán únicamente el producto depositado en las flores dentro del cultivo después de una aplicación. Así, para el cultivo de melón se sabe (de acuerdo a información estadística de producción) que se producen unos 50,000 kg/ha de melones y, si el peso del cada melón es de 1.5 kg, se esperan 33,333 melones/ha, lo cual equivale a 33,333 flores/ha en total, que fueron productivas. El total de flores por hectárea debe multiplicarse por 3, asumiendo que ese es el factor de "pérdida de flores", incluyendo las masculinas. Por lo tanto, el valor general estimado de flores por hectárea sería de 100,000. Ahora bien, el área de cada flor es de 5.07 cm^2 (cada flor mide 1 pulgada de diámetro) y para el total de 100,000 flores, se estimaría un área de flores (área floral) dentro de la hectárea tratada de 51 m^2. Entonces, asumiendo que las abejas consumirían solo el producto que se deposita en el área floral después de la aplicación, se calcula la concentración del producto esperada en el área floral (CAF), mediante la multiplicación la dosis de aplicación (en $\mu g/m^2$) por el área floral (51 m^2). Una vez que se cuenta con la concentración o cantidad de producto equivalente al área floral o área de forrajeo de las abejas (CAF) dentro de la hectárea de aplicación, se obtiene el consumo estimado por abeja (CE_{abeja}), dividiendo la concentración del producto estimada por área floral entre la población de abejas estimada por hectárea de cultivo.

[7] Reyes-Carrillo, 2009. Periodo optimo de polinización del melón con abejas melíferas (*Apis mellifera* L.). http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172009000400002 . Consultado el 14/10/20

[8] Tomado de: https://ecocolmena.com/curiosidades_abejas/. Consultado el 14/10/20