

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD CON CARBOFURÁN (FURADAN® 3GR) LD50
EN LA TRUCHA ARCO IRIS *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM, 1792)
OBSERVACIÓN CLÍNICA Y PATOLÓGICA

SONIA LILIANA PAZ ROSERO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERIA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO - COLOMBIA
2006

EVALUACIÓN DE TOXICIDAD CON CARBOFURÁN (FURADAN®3GR) LD50
EN LA TRUCHA ARCO IRIS *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM, 1792)
OBSERVACIÓN CLÍNICA Y PATOLÓGICA

SONIA LILIANA PAZ ROSERO

Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero
en Producción Acuícola.

Presidente
Juan José Lozada Castro
Mg. Química Analítica

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERIA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO - COLOMBIA
2006

“Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de Grado, son responsabilidad exclusiva de su autor”

Artículo 1ero del acuerdo N° 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN:

JUAN JOSÉ LOZADA CASTRO Mg., Química Analítica.
Presidente de tesis

ARIEL EMIRO GOMEZ CERON Biólogo Marino
Jurado delegado

GLORIA LUCIA CARDENAS CALVACHE Ingeniera Química
Jurado

San Juan de Pasto, 10 de Mayo del 2006.

DEDICO A:

A Dios, quien ha estado conmigo en todo momento y por ser la fuente de sabiduría y el conocimiento. A mis padres Carlos Humberto y Flor de Maria por sus regaños y consejos quienes con mucho cariño me los han dado para no desmayar, A mis hermanos John Jairo y Wilson por su paciencia, ayuda y comprensión, A mi mamá abuela Luz Marina y a mis tías por sus oraciones y bendiciones, A mis tíos y primos por las buenas palabras y a mis amigos y amigas por ayudarme a realizar este proyecto.

Sonia Liliana Paz Rosero.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

| | |
|---------------------------------|--|
| JUAN JOSÉ LOZADA CASTRO | Mg. Química Analítica |
| ARIEL EMIRO GOMEZ CERON | Biólogo Marino |
| GLORIA LUCIA CARDENAS CALVACHE | Ingeniera Química |
| MARCO ANTONIO IMUEZ FIGUEROA | Zoot., Esp |
| CARLOS SOLARTE PORTILLA | Zoot., M.Sc., Ph.D |
| IVAN HERNANDEZ RAMÍREZ | Biólogo Genético., Esp |
| RONALD GILBERTO BASTIDAS GUSTIN | Medico. Patólogo. |
| GEOVANNY CALVACHE ORTIZ | Ingeniero Químico., Esp. |
| MARY LUZ VALENCIA | Química |
| GERMAN DANILO CAICEDO | Zootecnista |
| LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA | Secretario de la facultad de Ciencias Pecuarias. |
| RUTH DAYANA LUCERO SALCEDO | Ingeniera en Producción Acuícola |

WILSON ORLANDO PAZ ROSERO

Ingeniero en Producción Acuícola

MARIA CAROLINA ORTEGA M.

Ingeniera en Producción Acuícola

A la Estación de Investigación Piscícola de Guairapungo, adscrita a la Corporación Regional de Nariño CORPONARIÑO.

Al Laboratorio de Histopatología PATOLOGOS ASOCIADOS.

A la Empresa de Obras Sanitarias de Pasto EMPOPASTO S.A. E.S.P.

Al Instituto Departamental de Salud de Nariño, Subdirección Programas Especiales-Laboratorios de Salud Pública.

Y a todas las personas que en una u otra forma contribuyeron al desarrollo de esta investigación

CONTENIDO

| | pág |
|---|-----|
| INTRODUCCIÓN | 22 |
| 1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA | 24 |
| 2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | 25 |
| 3. OBJETIVOS | 26 |
| 3.1 OBJETIVO GENRAL | 26 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 26 |
| 4. MARCO TEÓRICO | 27 |
| 4.1 BIOLOGÍA DE LA TRUCHA ARCO IRIS <i>Oncorhynchus mykiss</i> , (Walbaum, 1792). | 27 |
| 4.1.1 Ubicación Taxonómica | 27 |
| 4.1.2 Generalidades de la Especie | 28 |
| 4.1.3 Reseña histórica de la especie | 32 |
| 4.2 BIOENSAYOS CON ESPECIES ÍCTICAS | 33 |
| 4.3 CAUSAS DE ENFERMEDADES POR LOS FACTORES FÍSICO QUÍMICOS DEL AGUA. | 35 |
| 4.3.1 Causas de orden físico | 35 |
| 4.3.2 Causas de orden químico | 36 |
| 4.3.3 Parámetros fisicoquímicos del agua para trucha arco iris <i>O. mykiss</i> | 36 |
| 4.4 ASPECTOS CLÍNICOS Y LESIONÁLES | 40 |

| | |
|--|----|
| 4.5 CLASIFICACIÓN DE LOS INSECTICIDAS | 43 |
| 4.5.1 Formulaciones comerciales. | 44 |
| 4.5.2 Generalidades de los carbamatos. | 44 |
| 4.5.3 Identificación del producto | 46 |
| 4.5.4 Efectos negativos de los insecticidas en el agua | 49 |
| 4.6 HISTOLOGÍA EN PECES | 51 |
| 4.6.1 Estructura histológica del hígado de peces | 51 |
| 4.6.2 Histología de branquias | 52 |
| 4.6.3 Histología de piel | 52 |
| 4.7 CROMATOGRAFÍA | 53 |
| 5. DISEÑO METODOLÓGICO | 54 |
| 5.1 LOCALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO | 54 |
| 5.2 PERIODO DE ESTUDIO | 55 |
| 5.3 MATERIAL BIOLÓGICO | 55 |
| 5.4 INSTALACIONES, EQUIPOS Y UTENCILIOS | 55 |
| 5.5 PLAN DE MANEJO | 56 |
| 5.5.1 Adecuación de equipo | 56 |
| 5.5.2 Aireación | 57 |
| 5.5.3 Captura y transporte | 57 |
| 5.5.4 Acondicionamiento de los animales y dosificación | 57 |
| 5.5.5 Seguimiento y observación clínica | 57 |
| 5.5.6 Análisis de factores físico químicos | 58 |

| | |
|---|-----|
| 5.5.7 Análisis cromatográfico | 58 |
| 5.6 TRATAMIENTOS | 58 |
| 5.7 DISEÑO EXPERIMENTAL | 59 |
| 5.8 FORMULACION DE HIPÓTESIS | 60 |
| 5.9 VARIABLES EVALUADAS | 60 |
| 6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 61 |
| 6.1 TASA DE MORTALIDAD | 61 |
| 6.2 OBSERVACION CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA | 63 |
| 6.2.1 Observación clínica | 63 |
| 6.2.2 Observación histopatológica | 65 |
| 6.3 CALIDAD DE AGUA | 82 |
| 6.3.1 Amonio | 83 |
| 6.3.2 Nitritos | 84 |
| 6.3.3 Nitratos | 85 |
| 6.3.4 Sulfatos | 86 |
| 6.3.5 Dureza | 88 |
| 6.3.6 Alcalinidad y pH | 89 |
| 6.3.7 Relación entre Variables | 91 |
| 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 99 |
| 7.1 CONCLUSIONES | 99 |
| 7.2 RECOMENDACIONES | 101 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 102 |
| ANEXOS | |

LISTA DE FIGURAS

| | pág |
|---|-----|
| Figura 1. Trucha Arco Iris <i>Oncorhynchus mykiss</i> | 28 |
| Figura 2. Estructura química del Furadan 3GR | 45 |
| Figura 3. Estación piscícola Guairapungo el Encano | 54 |
| Figura 4. Pesaje y medición de animales | 57 |
| Figura 5. Porcentaje de mortalidad vs. Horas de exposición | 62 |
| Figura 6. Corte sagital del tejido epitelial <i>O. mykiss</i> H - E 5 μ 10x | 66 |
| Figura 7. Corte sagital del tejido epitelial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento cero. | 67 |
| Figura 8. Corte sagital del tejido epitelial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento uno. | 68 |
| Figura 9. Corte sagital del tejido epitelial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento dos. | 69 |
| Figura 10. Corte sagital del tejido epitelial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento tres. | 70 |
| Figura 11. Corte sagital del tejido branquial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 10x | 71 |
| Figura 12. Corte sagital del tejido branquial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento cero | 72 |
| Figura 13. Corte sagital del tejido branquial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento uno | 73 |
| Figura 14. Corte sagital del tejido branquial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento dos | 74 |
| Figura 15. Corte sagital del tejido branquial <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento tres | 75 |

| | |
|---|----|
| Figura 16. Corte sagital del tejido Hepático <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 10x | 77 |
| Figura 17. Corte sagital del tejido Hepático <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento cero | 78 |
| Figura 18. Corte sagital del tejido Hepático <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento uno | 79 |
| Figura 19. Corte sagital del tejido Hepático <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento dos | 80 |
| Figura 20. Corte sagital del tejido Hepático <i>O. mykiss</i> H-E 5 μ 40x para Tratamiento tres | 81 |
| Figura 21. Concentración de Amonio en el agua | 84 |
| Figura 22. Concentración de Nitritos en el agua | 85 |
| Figura 23. Concentración de Nitratos en el agua | 86 |
| Figura 24. Concentración de Sulfatos en el agua | 87 |
| Figura 25. Concentración de Dureza en el agua | 89 |
| Figura 26. Concentración de Alcalinidad en el agua | 90 |
| Figura 27. Concentración de pH en el agua | 91 |
| Figura 28. Curva de regresión entre sulfato con respecto al amonio | 92 |
| Figura 29. Curva de regresión entre pH con respecto al amonio | 93 |
| Figura 30. Curva de regresión entre Nitratos con respecto a los Nitritos | 94 |
| Figura 31. Curva de regresión entre Sulfatos con respecto a los Nitratos | 95 |
| Figura 32. Curva de regresión entre pH con respecto a los Nitratos | 96 |

LISTA DE TABLAS

| | pág |
|---|-----|
| Tabla 1. Rangos y Etiología de los parámetros físicos para Trucha Arco Iris | 41 |
| Tabla 2. Rangos y Etiología de los parámetros químicos para cultivo de Truchas Arco Iris. | 42 |
| Tabla 3. Recomendaciones del producto de plagas a erradicar | 49 |
| Tabla 4. Porcentaje de mortalidades entre tratamientos | 61 |
| Tabla 5. Movimientos operculares por minuto de acuerdo a cada tratamiento | 63 |
| Tabla 6. Alteraciones del comportamiento, signos clínicos y lesiones por tratamiento | 64 |
| Tabla 7. Promedio de los parámetros fisicoquímicos entre tratamientos | 82 |
| Tabla 8. Comparación de resultados de bioensayos reportados por otros investigadores | 98 |

LISTA DE ANEXOS

| | pág |
|---|-----|
| Anexo A. Protocolo del proceso histológico para peces | 110 |
| Anexo B. Mortalidades de acuerdo a cada replica por tratamiento | 112 |
| Anexo C. Parámetros fisicoquímicos para cada tratamiento durante las ocho replicas | 114 |
| Anexo D. Análisis de correlación múltiple para la calidad de agua | 115 |
| Anexo E. Análisis de varianza para Amonio | 116 |
| Anexo F. Análisis de varianza para Nitritos | 117 |
| Anexo G. Análisis de varianza para Nitratos | 118 |
| Anexo H. Análisis de varianza para Sulfatos | 119 |
| Anexo I. Análisis de varianza para Dureza | 120 |
| Anexo J. Análisis de varianza para Alcalinidad | 121 |
| Anexo K. Análisis de varianza para pH | 122 |
| Anexo L. Análisis estadístico para Temperatura | 123 |
| Anexo M. Análisis estadístico para movimientos operculares | 124 |
| Anexo N. Registro de peso y talla para <i>O. mykiss</i> utilizados en el bioensayo de toxicidad | 125 |
| Anexo O. Análisis de cromatografía para la determinación de insecticidas organofosforados y carbamatos inhibidores de colinesterasa método de lovibond. | 128 |

GLOSARIO

ACETILCOLINA: mediador químico de la transmisión del impulso nervioso. Es sintetizada por la enzima colin-acetilasa, que se encuentra en el interior de las mitocondrias. La acetilcolina se deposita en las vesículas presinápticas, provocando un impulso nervioso liberando la acetilcolina. Realizada su función, es rápidamente inactivada por otra enzima: la acetilcolinesterasa.

ATROFIA: disminución del volumen de células, tejidos u órganos, que puede llegar hasta la desaparición de los mismos, causada por alteraciones generalizadas o localizadas de la nutrición, por falta de uso, etc.

ACETILCOLINESTERASA: enzima presente en el sistema nervioso central, especialmente en las membranas postsinápticas, en los eritrocitos y en los órganos eléctricos de los peces, que produce la inactivación de la acetilcolina por hidrólisis de esta a acetato y colina. Tras la disociación de la acetilcolina, se restituye la relación característica potasio / sólido dentro y fuera de las fibras nerviosas.

BIOENSAYO: determinación del poder activo de un medicamento ensayado de su acción sobre organismos vegetales, animales.

CARBOFURÁN: insecticida carbámico, utilizado en la producción agrícola para la eliminación y prevención de insectos comedores y chupadores de plantas.

CÉLULAS CALICIFORMES: células presentes en las glándulas mucosas que ayudan a la segregación de mucus para protección de sustancias extrañas en el organismo.

COLINESTERASA: enzima localizada en las terminaciones nerviosas que por hidrólisis inactiva la acetilcolina (la transformación de ácido acético y colina).

CONTAMINACIÓN: presencia de sustancias sólidas, líquidas o gaseosas en un medio. El origen de esas sustancias puede ser natural (explosiones volcánicas,

tormentas de arena), aunque el término se aplica por lo general a las provocadas por la actividad humana (vertidos industriales, humo, escapes radioactivos, ruido). En la actualidad, la contaminación afecta en mayor o menor grado a todos los puntos del planeta; por ejemplo, en la grasa de los pingüinos de la Antártida se han encontrado restos de DDT y de otros productos químicos.

CARBAMATOS: sustancias orgánicas de síntesis conformadas por un átomo de nitrógeno unido a un grupo lábil, el ácido carbámico. Este tiene un efecto neurotóxico que en la dosis altas conlleva a la muerte. Sus características principales son su alta toxicidad, su baja estabilidad química y su nula acumulación en los tejidos, característica que lo posiciona en ventaja con respecto a los organoclorados de baja degradabilidad y gran acumulación.

CROMATOGRAFÍA: método analítico para la separación de productos químicos, en particular de los químicamente semejantes, y que por esta razón son difícilmente separables.

ECOTÓXICOLOGÍA: ciencia de los venenos encontrados en un ecosistema, que se ocupa de la composición física y química de todas las sustancias venenosas conocidas, así como de los métodos para detectarlos, de sus efectos en el organismo, y de los hallazgos postmortem que su acción provoca.

EOSINA: colorante rojo brillante que tiñe los tejidos y órganos de las células con afinidad ácida

ESTROMA: almacén del tejido conjuntivo que aparece en los órganos glandulares y en los tumores.

ETIOLOGÍA: estudio de las causas que producen las enfermedades. El tratamiento etiológico consiste en atacar las causas que provocan el mal.

HEMATOXILINA: colorante que con ayuda del oxígeno tiñe a las células, algunos organelos y a tejidos con afinidad básica de color azul violeta.

HIPERPLASIA: aumento del tamaño de un tejido u órgano por multiplicación del número de células, sin que estas aumenten su volumen individual.

HIPERTROFIA: aumento del tamaño de un órgano, generalmente a causa de un mayor uso (hipertrofia de la musculatura y del corazón en deportistas, hipertrofia de un riñón en caso de extracción quirúrgica de otro). Se basa en un crecimiento de las células, y no en un aumento en su número.

HISTOLOGIA: campo de la biología y de la medicina que explora la estructura tisular de órganos vegetales, animales y humanos a nivel microscópico. Los métodos de estudio son la preparación de cultivos tisulares y la coloración vital en los tejidos vivos, la microtomía los procedimientos de fijación y la coloración en los tejidos muertos.

INSECTICIDA: cualquiera de las sustancias que producen la muerte de los insectos dañinos, y que se emplea en la lucha contra estos. Los insecticidas actúan mecánicamente por destrucción de la cutícula (por ejemplo, polvo de silicio contra el gorgojo de los graneros) o químicamente, por inhalación (ácido cianhídrico, dióxido de azufre, sulfuro de carbono, globol y derris), por ingestión (compuestos de arsénico, plomo, mercurio), o por contacto (por ejemplo, DDT, paratión).

MUCUS: sustancia amorfa de aspecto gelatinoso blando, producto de la actividad de las glándulas mucosas. Tiene una función de protección mecánica de órganos como la piel, estomago y branquial.

MUSCARINA: sustancia tóxica de naturaleza alcaloide presente en algunos hongos venenosos, responsables de una sintomatología toxica violenta que recibe el nombre de muscarinismo, provocando en el trascurso de una o dos horas sudoración profunda, abundante salivación, nauseas, vómitos, diarrea, delirio y respiración difícil, a la que se acompaña un pulso débil, puede llegar a las convulsiones y en las formas más graves a la muerte por insuficiencia cardiaca.

Oncorhynchus mykiss: especie carácida originaria de Canadá, de aguas frías, apta para el desarrollo de bioensayos de toxicología acuática.

PATOLOGÍA: estudio de los procesos que siguen las enfermedades y las normas a las que estas están sujetas, como los cambios que se producen en los tejidos, órganos y las funciones orgánicas producidas por las enfermedades.

QUERATINA: sustancia (proteína sulfurosa) química y mecánicamente resistente, que forma parte de las células epiteliales; es el componente principal de la epidermis.

SISTEMA PARASIMPÁTICO: una de las dos secciones que constituyen el sistema nervioso vegetativo. Está estrechamente relacionado con el sistema ortosimpático provocando, a nivel de diferentes órganos en los cuales se distribuye, acciones antagonistas. El sistema nervioso vegetativo controla el mecanismo de muchas de las funciones en las cuales no intervienen la conciencia (contracción o dilatación de los vasos sanguíneos, contracción de los músculos cardíaco, branquial, intestinal, etc.)

RESUMEN

La presente investigación pretende evaluar el grado de toxicidad, mecanismo de acción, efectos patológicos y cambios fisicoquímicos en el agua, al aplicar el agroquímico Carbofurán (2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il) (Furadan® 3GR LD 50/96) caracterizado por ser un compuesto ácido carbámico, órganofosforado de categoría I de toxicidad (extremadamente tóxico), según el Instituto Colombiano Agropecuario ICA y la Organización de Normas Internacionales ISO.

El bioensayo se realizó durante un periodo comprendido entre el mes de Mayo al mes de Octubre del 2005, en la Estación Piscícola de Guairapungo, adscrita a la Corporación Autónoma Regional de Nariño CORPONARIÑO. Fueron utilizados 10 ejemplares por grupo de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, (Walbaum, 1792) bajo sistemas de acuario, divididos en 4 Tratamientos con diferentes concentraciones T0-Control, T1-14 mg/L, T2-18 mg/L, T3-22 mg/L, (concentraciones menores a lo publicado por el producto).

Para el estudio del comportamiento de los peces se utilizó medios fotográficos y audiovisuales. A los animales muertos de cada grupo, al cabo de 96 horas, se les realizó examen de necropsia y se tomaron muestras de piel, branquias e hígado fijados en formaldehído buferado (pH 7,0 al 10%) para posterior coloración con Hematoxilina y Eosina. La mortalidad registrada arrojó un valor de LD50 para T1 con dosis de 14 mg/L, mayor al 50% de la población, en un periodo de tiempo de 24 a 36 horas. Para el T2 con dosis de 18 mg/L, mayor al 50% de la población, en un periodo de 16 a 28 horas y para el T3 con dosis de 22 mg/L, mayor al 50% de la población en un periodo de 4 a 16 horas de realizado el bioensayo.

Los resultados de la presente investigación reflejan la sensibilidad de la biota acuática, a la acción de los diferentes químicos utilizados en el medio agropecuario, sin sospechar los efectos negativos sobre los seres vivos y el ambiente.

ABSTRACT

This investigation pretends to evaluate toxicity level, mechanisms of action, pathological effects and physical-chemical changes to water when the agricultural chemical substance Carbofurán (2,3-dihydro-2,2-dimetilbenzofuran-1-il) (Furadan® 3GR LD 50/96) is applied in it. According to the Colombian Farming Institute (Agricultural Colombian Institute ICA) and the International Standards Organization ISO, the chemical substance has the characteristic of being an carbamate acid element and organophosphorade of category I toxicity (extremely toxic)

The biotest was carried out from May 2005 to October 2005; the process took place in Guairapungo fish farm station, which is appointed to the Nariño Regional Autonomous Corp. (Regional Autonomous corporation of Nariño CORPONARIÑO). Ten specimen of “rainbow” trout *Oncorhynchus mykiss*, (Walbaum, 1792), under aquariums system where separated in four treatments with different concentrations of Carbofuran, T0-Control, T1-14 mg/L, T2-18 mg/L, T3-22 mg/L (these concentrations are below the ones publicated with the product). In order to study the fish behavior were used photographic and audio-visual means.

After 96 hours, an autopsy test was made to dead fish from each group, besides, tissues of skin, tonsils and liver were taken, then all of these were fixed in formaldheyde buferado (pH 7.0 at 10%) to be dyed with Hematoxilin and Eosin.

The results regarding to mortality were LD50 for T1 in doses of 14 mg/L, it was higher than 50% from population, in a period of time betwenn 24 and 36 hours. For T2 in doses of 18 mg/L, it was higher than 50% from population in a period between 16 and 28 hours; finally for T3 in doses of 22 mg/L, it was higher than 50% of population in a period between 4 and 16 hours of being carrying out the biotest.

The results of this research shows how fragile is the aquatic biota before the action of different chemical substances used in the countryside, noticing the negative effects on wild live and the enviroment.

INTRODUCCIÓN

El Carbofurán es un insecticida órganofosforado que se está utilizado en Colombia con mayor demanda en la erradicación de plagas que atacan los cultivos de papa, tomate, algodón, banano, plátano, café maíz, arroz habichuela y arveja, sin conocer que este producto en presentación granulada es altamente duradero en el ambiente para mayor eficacia en la muerte de organismos rastreros.

En consecuencia hace miles de años que el hombre es causa de contaminación de todo aquello que le circunda, afectando el ambiente natural debido a la presencia de impurezas. Cuando la población era relativamente escasa, y sobre todo escasamente concentrada, el aire y el agua diluían las impurezas producidas, resolviendo naturalmente el problema. Con el paso de los siglos, el aumento de la población y el desarrollo de la tendencia a reunirse y agregarse socialmente ha hecho que aumente las posibilidades de contaminación del ambiente.

El Instituto Superior de Ciencias y Tecnología Nucleares, ISCTN. En la Habana, Cuba, expone que:

Se han realizado bioensayos para la determinación de la toxicidad (aguda o crónica) del agua en ríos y quebradas. Estos comprenden el uso de microorganismos, crustáceos y peces, así como otros aspectos generales relacionados con la ecotoxicología. Se pudo comprobar que los bioensayos microbianos son adecuados y recomendables para la evaluación de la toxicidad de aguas debido a su bajo costo, simplicidad y poco tiempo para la realización de los mismos; sin embargo, el empleo de diferentes especies de peces para estudios relacionados con ecotoxicología se encuentra muy difundido, resultando ser el método más empleado en la actualidad por su fácil manipulación y obtención de resultados que identifican el grado de contaminación en el ecosistema acuático, los macroinvertebrados, poseen un comportamiento muy diferente a los peces dando a conocer mayor exactitud en la ecotoxicología por su similitud en la etiología humana.

A pesar de las ventajas que posee el empleo de microorganismos para la realización de diferentes bioensayos, los peces juegan un papel fundamental

dentro de la cadena alimenticia, estos consumen y controlan las poblaciones de insectos, micro-crustáceos y algas que permiten de esta forma la recirculación, remoción y resuspensión de material dentro del ecosistema. También por la gran importancia económica de ellos, se han desarrollado bioensayos que han empleado gran cantidad de especies de peces, los cuales son sensibles a la presencia de determinados agentes tóxicos¹.

Desafortunadamente, en Colombia y en Nariño desde hace mucho tiempo se siguen usando por el sistema de minifundio con la utilización de compuestos químicos para erradicar plagas en cultivos como; papa, maíz, café, zanahoria y demás vegetales. Estas practicas afectan la calidad de agua dañando gran cantidad del ecosistema acuático provocando la muerte a microorganismos, plantas y peces que ayudan a mantener el equilibrio a los recursos hidrobiológicos.

En Nariño, la practica de la agricultura, es la labor más importante y parte fundamental de la economía del departamento, de igual manera por los pisos térmicos que presenta la región ésta es variable, por ende la protección de cultivos ante plagas inesperadas o resistentes a antiguos pesticidas, acariciadas e Insecticidas hace que el hombre busque productos más fuertes que se mantenga en el medio para mayor eficiencia. La utilización de estos evitan que macro-invertebrados ataquen las plantas llegando así a la perdida del cultivo, sin embargo no se tiene en cuenta del efecto colateral que se revela en la contaminación de afluentes como quebradas y ríos que se producen por medio de escorrentía.

¹ INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA NUCLEARES (ISCTN). Principales bioensayos para determinar toxicidad en el agua. (online) La Habana Cuba. 6 Enero 2004. Disponible en Internet: <http://www.puma.sskkii.gu.se/cubataller7/VTaller/0303.html>.

1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

La contaminación del ambiente comenzó hace cien años aproximadamente, alcanzando hoy una situación dramática. La causa principal hay que buscarla en el gran desarrollo industrial en las naciones, con mayor progreso. Para producir productos útiles y a veces indispensables para nuestras exigencias (como plástico, químicos, fertilizantes, etc.) es necesario consumir gran cantidad de energía que a su vez produce gran cantidad de material de desecho nocivo, que luego puede verterse a los ríos, al aire o al suelo.

Para producir una cantidad cada vez mayor de alimentos, el hombre debe proteger sus cultivos con antiparasitarios adecuados y abonos artificiales y sintéticos, que si, por un lado, sirven para alcanzar el fin deseado, por el otro, transfiriéndose a los productos finales pueden provocar grandes consecuencias en el hombre que las consume. Ocurre, pues, que, no pudiendo detenerse a conocer todos aquellos productos, además de los abonos químicos, que, si bien han sido fabricados para fines precisos de utilidad, llevan consigo a veces efectos colaterales que se revelan con el tiempo como muy dañinos.

Bayer Cropciences² afirma, que el uso del Insecticida Carbofurán es utilizado por su eficacia, rapidez, calidad y costo, erradicando plagas como el gusano blanco de la papa *Premnotrypes vorax*, el cucarro del maíz *Euetheola bidentata*, la mosca blanca de la habichuela y tomate *Trialeurodes vaporariorum*, y el minador del tallo de la arveja *Melanogromyza lini*. Pero los agricultores ni se han adecuado sobre las cantidades mínimas utilizadas para no superar las dosis letales en organismos acuáticos y terrestres. El producto afirma que la dosis letal media (LD50) para organismos acuáticos es de 22 a 29 mg/L y las cantidades utilizadas para cada producto alimenticio es de 20 a 30 Kg/ha.

El Carbofurán al ser agregado en las plantas de forma líquida o granulada cerca de sus raíces se mantiene presente en la tierra hasta que al caer la lluvia este insecticida se une con el agua generando arrastres por escorrentía hasta las fuentes de agua como ríos, quebradas, riachuelos, lagunas etc. Generando la contaminación en los ecosistemas acuáticos.

² BAYER CROPSCIENCES, (online) (Bogotá, D.C), 17 Enero 2004. disponible en internet: [http://www.afipa.cl/afipa/bayer crop/carbofuran.pdf](http://www.afipa.cl/afipa/bayer%20crop/carbofuran.pdf)

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Investigaciones que se han realizado sobre el efecto que causan los insecticidas en la biota acuática es muy escasa. Por tanto es importante investigar qué consecuencias clínicas y patológicas trae la contaminación con Carbofurán en el agua a organismos acuáticos. Por ende el anterior proyecto plantea el siguiente problema.

¿Cuál es el efecto patológico y clínico que causa el Carbofurán Furadan® 3GR con dosis letal media LD50 en la Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss*, expuesta a las 96 horas en concentraciones de 14, 18 y 22 mg/L?.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto patológico y clínico en el tejido epitelial, branquial y hepático de la Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss* expuestos al insecticida agroquímico Carbofurán Furadan® 3GR, LD50/96.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ❖ Establecer la cantidad de Carbofurán LD50 que produce lesiones en los tejidos de la Trucha Arco Iris *O. mykiss* en un periodo de 96 horas.
- ❖ Identificar las reacciones que presenta la Trucha Arco Iris *O. mykiss* en presencia de Carbofurán.
- ❖ Realizar la necropsia de los tejidos hepático, branquial y epitelial de la Trucha Arco Iris *O. mykiss*. Para el diagnóstico y el estado patológico en las células contaminadas con Carbofurán

4. MARCO TEORICO

4.1 BIOLOGIA DE LA TRUCHA ARCO IRIS *Oncorhynchus mykiss*, (Walbaum, 1792).

4.1.1 Ubicación Taxonómica. de acuerdo con Scortecci:

Una de las familias más importantes desde el punto de vista económico es, sin duda, la de los salmónidos. Con un cuerpo mas o menos alargado, cubierto de escamas cicloideas, con la línea lateral visible, boca terminal, provista o no de dienteillos, la aleta dorsal es media, no larga, presenta una aletilla adiposa, la caudal algo incisa, la anal medianamente grande, las abdominales en posición central y tamaño regular, y las pectorales situadas muy bajas. Por consiguiente, estos y otros caracteres permiten reconocer a los salmónidos a simple vista (Figura 1). La familia tiene pocos géneros, pero estos comprenden numerosas especies, algunas muy importantes para la economía humana, viven en el mar y se trasladan periódicamente a las frías aguas de los torrentes para desovar; otras viven con preferencia en las aguas dulces, sobre todo en la de los lagos, corrientes montañesas y en todos los lugares en la que la temperatura no sea alta³.

La clasificación taxonómica según Walbaum es:

| | |
|--------------------|-------------------------------|
| Reino: | Animal |
| Phylum: | Vertebrata |
| Orden: | Salmoniformes |
| Familia: | Salmonidae |
| Género: | <i>Oncorhynchus</i> |
| Especie: | <i>mykiss</i> |
| Nombre Científico: | <i>Oncorhynchus mykiss</i> . |
| Nombre vulgar: | Trucha arco iris ⁴ |

³ SCORTECCI, George. Los animales como son, donde viven, como viven. Barcelona: Vergara, 1967. p. 367

⁴ WALBAUM, Descripción en salmónidos_ (online) (España), 17Enero. 2004. Disponible en Internet: <http://www.fishbase.org>.

Figura 1. Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss*.



www.fishbase.org

4.1.2 Generalidades de la Especie. de acuerdo con el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura INPA:

La trucha se caracteriza por presentar un cuerpo alargado fusiforme y cabeza relativamente pequeña, termina en una boca grande y puntiaguda hendida hacia el nivel de los ojos y una fila de dientes fuertes. El género *Oncorhynchus* (nariz ganchuda), presenta numerosos puntos negros y una banda iridiscente en los flancos del pez, la cual cambia ligeramente de época de madurez donde el oscurecimiento en los machos es notorio. El color en la musculatura varía desde el blanco al salmónido intenso, pero está ligada al tipo de alimentación. En la mitad del cuerpo se encuentra la primera aleta dorsal formada únicamente por radios blandos, posteriormente a ésta aparece una pequeña aleta adiposa, opuesta y ventralmente se encuentra la aleta anal ubicada en la parte inferior. Las aletas pélvicas o ventrales actúan como remos y se encuentran en la sección media posterior del pez y termina en una aleta caudal homocerca de función propulsora⁵.

⁵ INSTITUTO DE PESCA Y ACUACULTURA (INPA), Boletín estadístico pesquero. Santa Fe de Bogotá: Ministerio de agricultura y desarrollo rural, 1995. p. 21 - 25

- **Piel.** Según Amaya⁶, está constituida por dermis y epidermis, esta última segrega el mucus lo que la hace lisa y escurridiza, tiene el cuerpo cubierto de cuero. Esta se abre en numerosos botones gustativos y corpúsculos nerviosos que permiten al pez localizar su presa y percibir la presencia de sustancias disueltas.

De acuerdo con Lagler⁷, la piel es la primera capa de defensa contra las enfermedades. También proporciona protección y adaptación respecto a los factores ambientales que influyen en su vida, porque contienen receptores sensoriales ajustados al medio en que vive. Además, la piel tiene funciones respiratorias, excretoras y osmorreguladoras. También en la piel se encuentra los mecanismos que proporcionan al pez la coloración y opacidad o brillantez que le sirve para ocultarlo, así como también las glándulas cuyas secreciones le dan la característica mucosa y el olor del pez.

Boyd⁸ sostiene, que la piel de un pez consta de dos capas. La externa es la epidermis y la interna la dermis o córion. La epidermis del pez es en muchos aspectos similar a la mucosidad de la boca humana. Generalmente está compuesta superficialmente de muchas capas de celular epiteliales, planas y caliciformes o secretoras de mucus. Las capas más profundas conforman una zona de crecimiento celular activo y de multiplicación. La multiplicación celular es constante y repone células a la epidermis, a medida que se van perdiendo, y asegura el crecimiento del pez. Estas células epiteliales de la epidermis son las primeras que ayudan a cicatrizar una herida superficial.

Según Gupta⁹, la capa dérmica de la piel contiene bazos sanguíneos, nervios y órganos sensoriales cutáneos, además de tejido conectivo. Cuando se despoja a un pez de su piel las fibras del tejido conectivo (esqueleto membranoso) que la unen al músculo y esqueleto, son muy evidentes. La dermis juega un papel muy importante en la formación de escamas y estructuras integumentarias relacionadas con ella.

⁶ AMAYA, R. *et. al.* Generalidades sobre el cultivo de la trucha. Bucaramanga: Panamericana, 1982. p.p.125 - 132

⁷ LAGLER Karl, Ictiología, México: Azteca, 1984. p.p. 78 -102

⁸ BOYD, Cavin. Water quality management for pond fish culture. New York: Elsevier, 1981. p. 142

⁹ GUPTA, Simon. Observations fish biology. Canada: Huntingdon, 1974. p. 13

Wooton¹⁰ menciona, que hay en la piel numerosas aberturas que corresponden a las células mucosas glandulares, en forma de recipiente de cuello delgado que se extiende dentro de la dermis, encontrándose ampliamente distribuidas entre las células planas de la epidermis. Estas células secretan el moco resbaloso que cubre a la mayoría de los peces. La función secretora de estas células es tan efectiva que se dice que un solo individuo es capaz de producir una cubeta llena de sustancia viscosa. El mucus le permite desplazarse con mayor facilidad cuando nada en el agua. Como la mucosidad se va eliminando por la misión de expulsión de microorganismos y sustancias irritantes que pueden ser dañinas si son acumuladas.

- **Branquias.** según Septal¹¹, las branquias es el principal órgano de la respiración, aunque hay innovaciones especializadas suplementarias que han aparecido en muchos grupos (notablemente en los peces pulmonados que periódicamente, y de acuerdo con cierta estación del año, aprovechan la adaptación de una vejiga hidrostática para el intercambio respiratorio con el aire atmosférico). Los arcos branquiales llevan consigo las branquias en los gnastomados. Cada una lleva, típicamente una hemibranchia que esta frente al extremo caudal. Los filamentos branquiales son dobleces en forma de cordoncillo en los septos interbranquiales (de ahí el nombre del grupo “elasmobranquio” que significa “branchia en forma de lamina”). El septo situado entre los filamentos opuestos pueden acortarse hasta el grado de desaparecer casi por completo. Cuando el septo es reducido los filamentos opuestos quedan libres en toda su longitud, o en la mayor parte de ella; dependiendo de la extensión de la reducción.
- **Hígado.** Corrado¹² demostró, que es una glándula, indispensable para la vida del pez, dotada de numerosas actividades esencialmente ligadas al metabolismo intermediario, está situado en la parte preliminar del cuerpo entre la VI y X costilla pleural antepuesto a los ciegos pilóricos y postrero al corazón. Tiene la forma de un segmento superior ovoide, con color rojo oscuro, con un tamaño de 2,7 cm de largo y 1,6 cm de ancho según la especie.

¹⁰ WOOTON, Richard. Environmental factors in fish reproductions. Netherlands: Goos, 1982. p. 210

¹¹ SEPTAL, Andrus. Anatomía animal, Madrid: Vergara, 1990. p. 670

¹² CORRADO, Herman. Ictiología, Madrid: Vergara, 1980. p.p. 1140 – 1157

Anthony¹³ describe, que en él se distinguen tres caras: una superior, una inferior o visceral y una posterior. La cara superior o convexa se encuentra inmediatamente debajo de la parte anterior de la vejiga hidrostática. La cara visceral o inferior es plana y esta dividida por tres surcos que por su disposición, asume la forma de una H, situados dos sagitalmente y uno transversalmente. En la parte anterior del surco derecho se encuentra la vesícula biliar, mientras que en la parte anterior del surco izquierdo esta situado el músculo abdominal. Su función principal es de orden metabólico, por lo cual la afectación grave y difusa de la integridad anatómica del hígado produce la muerte del animal.

Child¹⁴ menciona, que la función hemodinámica es de controlar el volumen y la composición de la sangre circundante. La síntesis de la proteína es otra de las funciones del hígado, la cual se realiza por la escisión de los aminoácidos, formación del amoniaco y transformación de éste en urea. La síntesis de la proteína se lo origina de los aminoácidos que pueden provenir del intestino para formar proteínas propias del hígado en el sentido en que participan en la estructura del hepatocito. Otras provienen de la sangre en forma de albúmina y alfa-globulina, y otras forman parte de los factores para la coagulación. Con el catabolismo de la proteína y la liberación de los aminoácidos se encuentra la formación de amoniaco. Se forma a partir de la deanimación de las proteínas, más el amoniaco producido por la fermentación provocada de la flora bacteriana intestinal, es transformado posteriormente en urea.

- **Sistema nervioso.** Dorris¹⁵ menciona, que el sistema nervioso central se origina en una banda dorsal del ectodermo llamada placa medular al inicio del desarrollo. La placa se invagina para formar el tejido nervioso llamado tubo neurál, el extremo de este tubo crece más rápido que el resto del mismo dando origen al cerebro, el cual consta de tres vesículas primarias. El sistema nervioso central con el cerebro, dividido en cinco vesículas: miencéfalo, metencéfalo, diencefalo, telencefalo y medula espinal.

¹³ ANTHONY, Richard. Etude experimentale des facteurs determinant la morphologie the fish. Paris: Saunders, 1913. p. 465

¹⁴ CHILD, Charles. Differential reduction of vital dyes in the early development of liver, Lond: Roux, 1936. p. 135

¹⁵ DORRIS, Fabians. Development of exstructure and function in the nerve system in Salmonidae, Lond: Zool. 1935. p.491

- **Línea lateral.** Fraser¹⁶ considera, que es un cordón nervioso con funcionalidad de sentir las variaciones de la temperatura y la presencia de depredadores, además de los cambios físico-químicos y cuerpos extraños en el medio.
- **Órganos motores** Roberth¹⁷ afirma, que la trucha carece de párpados, el ojo en sí guarda similitud con los vertebrados y posee ojos poco móviles. Los oídos de los salmónidos aunque pueden detectar algunas vibraciones, carecen de orificio externo y su función principal es la del equilibrio puesto que están localizados detrás de los ojos. Su tacto está constituido por terminaciones nerviosas libres que permiten captar la naturaleza de los estímulos, por tanto; provoca reacciones reflejadas, este órgano está bien desarrollado y le sirve al pez para defensa, sobrevivencia y alimentación.

Palade¹⁸ sostiene, que el olfato en la trucha sirve para buscar el alimento, aunque puede tener otras funciones como detectar los olores sexuales en la reproducción o como medio de orientación en las migraciones. Su vejiga hidrostática se encuentra en la cavidad abdominal por debajo de la columna vertebral y de los riñones, unida por el esófago al conducto neumático, funciona como órgano hidrostático que mantiene al pez constante en el medio. El gusto lo perciben por medio de papilas gustativas que comúnmente se hallan concentradas en la lengua.

4.1.3 Reseña histórica de la especie. Davis¹⁹ reporta, que la trucha arco iris es originaria de la costa de los Estados Unidos, donde habita tanto en quebradas como en ríos. Su introducción y posterior cultivo se ha extendido a muchos países en donde sus características la han convertido en un renglón importante dentro del sector acuícola. Llegó a Europa hacia el año 1880 y a Colombia en el año de 1939, con amplia distribución en el territorio nacional, especialmente hacia las zonas frías como Cundinamarca, Antioquia, el viejo Caldas, Santander y Nariño.

¹⁶ FRASER, Rubiela. Studies on the hypoblast of the young chick embryo, Englewood: Cliffs, 1955. p. 42

¹⁷ ROBERTH, Paul. Fisiología de salmón, Canadá: Panamericana, 1992. p. 400

¹⁸ PALADE, Cristina. Morphological and biochemical study of fish. Cytologia. Filadelfia: Saunderst, 1956. p. 171

¹⁹ DAVIS, Simón, *et. al.* Fisiología de peces. Santiago de Chile: Panamericana, 1992 p. 142.

Hernández²⁰ considera, que Las truchas han demostrado muy poca adaptabilidad a las calidades de aguas y temperaturas en algunas regiones del país y actualmente en Colombia existe más de 72 granjas industriales. Antioquia, Cundinamarca, Risaralda, Cauca, Santander y Nariño, son las zonas de mayor desarrollo en cuanto a tecnología y volumen de producción por la diversidad de climas y fuentes de agua ricas en especies ícticas.

4.2 BIOENSAYOS CON ESPECIES ICTICAS

De acuerdo con Velasco²¹, desde el punto de vista biológico las hembras son las responsables del sostenimiento y preservación de la especie de un ecosistema, por lo tanto son las mas utilizadas para los bioensayos. Se emplean organismos juveniles, con una longitud generalmente entre 6 cm a 10 cm y 24 horas antes de la realización del bioensayo se suspende la alimentación. Los bioensayos generalmente se realizan en acuarios de vidrio y con una densidad de población de alrededor de un pez por cada 10 cm² de área superficial, empleando para cada réplica no menos de 10 peces, los cuales son expuestos generalmente a varias concentraciones de agente tóxico residual por un período de 48 a 96 horas. El procedimiento permite determinar la dosis que tenga un menor efecto en los organismos probados y la que es letal para el 50% de estos (LD50) durante el período de prueba.

La Organización de Normas Internacionales ISO²² sostiene, que en el estudio de toxicidad con peces se han empleado una gran variedad de especies, siendo las más acertadas y estudiadas internacionalmente las especies como el pez cebrá *Brachydanio rerio* y la Trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*. La recolección de los peces para el ensayo se realiza generalmente de aguas naturales, son transferidos a contenedores para la transportación al laboratorio y son mantenidos durante un período, no menor de siete días a la aclimatación de las condiciones del laboratorio con condiciones de temperatura, aireación y alimentación controladas.

²⁰ HERNANDEZ, Nestor. Fisiología de peces y mariscos (online) (México), 25 Agosto. 2005. Disponible en Internet: <http://www.fondef.cl/bases/fondef/INST/0002342.html>.

²¹ VELASCO, Carmen. Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater- Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), España: Vergara, 1997, pp. 234 - 252.

²² ORGANIZACIÓN DE NORMAS INTERNACIONALES (ISO). Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater- Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). (online) (EEUU), 25 Agosto 2004. Disponible en Internet: <http://www.fondef.eu/normaiso/inst/10229.html>.

Sagaon²³ considera, que existen otras especies que también pueden emplearse para la realización de bioensayos, como: *Alosa pseudoharengus*, de la familia *Clupeidae*; *Coregonus spp.* y *Salvelinus fontinalis*, de la familia *Salmonidae*, *Carassius auratus* y *Pimephales promelas*, de la familia *Cyprinidae*; *Gasterosteus aculeatus*, de la familia *Gasteosteidae* y especies como *Lepomis macrochirus*, *Oryzias latipes*, *Pimephales promelas* y *Poecilia reticulata*.

Dost²⁴ describe, que los efectos en el agua con herbicidas, insecticidas, fungicidas, acaricidas sobre los peces causan cambios en el comportamiento, en concentraciones alrededor de 37,5 ppm con presencia del 10 % de surfactante y 13,5 ppm en presencia del 15% del surfactante (concentraciones mantenidas durante las 96 horas) generan alteraciones en la visión.

Giesy *et al*²⁵ reporta, que para causar cualquier alteración en el comportamiento de los peces solo basta encontrar en el agua una cierta cantidad de agrotóxico a razón de 0,7 ppm a profundidad aproximada de 30 cm.

Cox²⁶ considera, que en los sistemas acuáticos cualquier agrotóxico supera la clasificación de toxicidad (Intermedia, Aguda, Letal) reportando valores de concentraciones letal media CL50 entre 10 a 200 ppm dependiendo de la especie del pez y condiciones de las pruebas.

Nescovik *et al*²⁷ reporta, el control letal CL 50 con Dimethoato (Roxión) evaluado en Carpa roja *Cyprinus carpio* a concentraciones de 15 - 26 mg /L a temperatura de 20°C, 24°C, 28°C, determinando una toxicidad y concluyendo que esta se incrementa con el aumento de la temperatura del agua.

²³ SAGAON, Natalia. Captura y toxicidad en peces (online) (México) 15 Octubre. 2004. Disponible en Internet: <http://www.ultramarinos.coma.mx/octopus/enero03/articulos/toxicidadpeces.html>.

²⁴ DOST, Frederick. Evaluation of herbicide Factsheet, Glyphosate by Caroline Cox in Journal of Pesticide Reform. Santa Cruz: JPR, 1998. pp. 3-15

²⁵ GIESY, John *et. al.* Ecotoxicological risk assessment for carbamatos (online) (USA) 18 Octubre. 2003. Disponible en Internet: http://tearamundo.org/controlmanage/docs/carbamate_aqua_risk.pdf.

²⁶ COX, Caroline. Glyphosate fact sheet part 2 of 2 J. pest (online) (Alabama) 11 Junio. 2002. Disponible en Internet: <http://www.mindfully.org/pesticide/carbamate-factsheet-cox2html>

²⁷ NESCOVIK, Niel *et. al.* Biochemical and histopathological effects of carbamate on redcarp, *Cyprinus carpio*. New York: environ, 1996. p. 302

Andrade²⁸, obtuvo efectos sub-letales con Dimethyl carbamato (Dimetilan) a bajas concentraciones (cerca de la media o tercera parte de la CL50) en trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* y tilapia roja *Oreochromis sp*; determinando nado errático y dificultad respiratoria, estos efectos pueden incrementar el riesgo de que el pez sea predado y a su vez altera los patrones de alimentación, migración y reproducción.

Stuardt²⁹ describe, un aumento en la actividad en la fosfatasa alcalina hepática y cardiaca e incremento en la actividad de la transaminasa glutámico-oxalo-acética y glutámico-piruvica en la medaka *Oryzcasas latipez*, a concentración de 10 mg/L por un periodo de 14 días a temperatura de 24°C con Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT).

Cárdenas *et al*³⁰ estudiaron, el efecto del Carbarilo (Carbaril) en la fosfatasa alcalina hepática y cardiaca en la sabaleta *Brycon henni* a concentraciones bajas de 2,5 - 5 mg /L.

Santiago³¹ obtuvo, un desarrollo de hiperplasia epitelial y edema sub-epitelial a nivel de branquias en Golfish *Carassius auratus* expuestas a Carbofurán (Caratel) (5 mg/L) a temperatura de 24°C con un pH de 1,2 ± 2 .

4.3 CAUSAS DE ENFERMEDADES POR LOS FACTORES FÍSICOQUÍMICOS DEL AGUA.

4.3.1 Causas de Orden Físico. Kinklellin³² afirma, que las causas físicas están principalmente constituidas por las propiedades físicas del agua tales como: temperatura, contenido de material en suspensión (MES); aunque también comprenden las radiaciones y todas aquellas agresiones que resultan de la

²⁸ ANDRADE, Roberto. Fish pathology. Harcourt publisher limited. North America: Survey, 1987. p. 69

²⁹ STUARDT, Daniel. DDT. Pesticide fact she et forestry use on medaka *Oryzcasas latipez* (online) (Alaska) 11 Agosto. 2002. Disponible en Internet: <http://www.uaptimberlnd.com/nlinks.pdf>

³⁰ CARDENAS, Katie. *et. al.* Facts about carbaril with sabaleta *Brycon henni*. (online) (Southerneastern) 21 Agosto. 2003. Disponible en Internet: <http://www.pond.net/fish1ifr/salpest.pdf>

³¹ SANTIAGO, Santos. Effects of oxail on hyperplasic hepatica of free-living in goldfish. Texas: Manage,1995. p. 352

³² KINKLELLIN, P. Tratado de las Enfermedades de los Peces. Zaragoza: Elsevier. 1991. pp. 3 - 6.

actividad de los animales o de las practicas piscícolas. Un ejemplo de la interacción de estos factores etiológicos será la temperatura que, aparte de su efecto letal directo, actúa sobre numerosos factores implicados en la salud de los peces. En efecto, como se trata de animales de temperatura variable, la fisiología de su especie determinada estará influenciada por la temperatura del agua, y su receptividad frente a los agentes infecciosos podrá ser muy diferente.

Silva³³ menciona, que la temperatura condicionará al mismo tiempo el contenido de oxígeno disuelto en el agua, de la cual es indispensable un cierto nivel para el mantenimiento de la salud del pez repercutiendo sobre todas sus funciones incluidas las de defensa. Por otra parte, la temperatura hará variar la toxicidad de numerosos contaminantes, bien modulando su transformación en su forma toxica (caso del amoniaco) o bien facilitando la absorción branquial por elevación del ritmo respiratorio. De esta forma, las interacciones existentes entre las causas físicas y químicas manifiesta la importancia de considerar los componentes del medio ambiente en la anamnesis.

4.3.2 Causas por orden Químico. Spinosa³⁴ considera, que las propiedades y la composición del agua (pH, alcalinidad, contenido de gases disueltos, materias nitrogenadas, toxinas segregadas por algas, o en diversos contaminantes como cloruros, sulfatos, mercurio, ácidos, pesticidas, insecticidas, cloro-fenoles, detergentes, hidrocarburos, etc.) son muy importantes para la vida acuática. Un ejemplo importante de alteración en las causas de orden químico y físico es la toxicidad del amoniaco que esta regulando a la vez por el pH, temperatura, salinidad y el contenido en oxigeno del agua para cada una de las especie de peces en un estado fisiológico determinado.

4.3.3 Parámetros fisicoquímicos del agua para la trucha arco iris *O. mykiss*.

Según Cáceres³⁵, las truchas son especies aptas para el cultivo en zonas con temperaturas frías. Debido a su comportamiento en la búsqueda continua de la corriente, su cultivo depende de un gran volumen de agua importante para un

³³ SILVA, Tom. Environmental manipulation to stimulate in fish rearing ponds. Amsterdam: Glypho., 1984. p.380

³⁴SPINOSA, Alberth. Empleo de peces para la realización de ensayos de toxicidad. México: Azteca. 1970. p. 68

³⁵CACERES, Leen. El cultivo de la trucha. España: Folio. 1978. p. 520

recomendable crecimiento, así como de unas condiciones fisicoquímicas especiales para su cultivo.

Temperatura. El mismo autor manifiesta, que los peces son animales poiquilotermos (su temperatura corporal depende de la temperatura del agua) y altamente termofílicos (dependientes y sensibles a los cambios de la temperatura). El rango recomendable de temperatura fluctúa entre 12 y 18°C para explotación de ceba y de 8°C a 12°C para estaciones de reproducción (desove de reproducción e incubación de ovas). Los cambios de temperatura afecta directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor tasa metabólica y por ende mayor consumo de oxígeno.

Dureza. Juárez³⁶ reporta, que es la medida de la concentración de los iones de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺ expresadas en ppm de su equivalente a carbonato de calcio. El rango óptimo se encuentra entre 70 – 500 ppm. La dureza por debajo de 10 ppm ocasiona problemas a nivel de crecimiento, pérdida de escamas, problemas de aletas y fecundidad en reproductores.

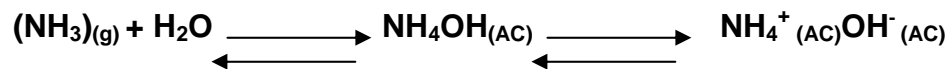
pH. Machado³⁷ afirma, que es la concentración de iones de hidrógeno en el agua. El rango óptimo está entre 6,5 a 8,0. Valores por encima o por debajo, causa cambios de comportamiento en los peces como letárgica, inapetencia, disminuyen y retrasan la reproducción y el crecimiento. Valores de pH cercanos a 5, producen mortalidad en periodo de 3 a 5 horas por fallas respiratorias, además causan pérdida de pigmentación e incremento en la secreción de mucus en branquias por anoxia (asfixia).

Amonio: El mismo autor considera, que es un producto de la excreción de los peces y de la descomposición de materia orgánica (degradación de material vegetal y degradación de las proteínas de alimento no consumido). El amonio no ionizado (forma gaseosa y primer producto de excreción de los peces) es un elemento tóxico. Los valores de amonio deben fluctuar entre 0,01 ppm a 0,015 ppm (valores cercanos a las 0,06 ppm son críticos).

³⁶ JUAREZ, T.P. Evaluación de uso de insecticidas en peces. Argentina: Trujillo. 1982. p. 1550

³⁷ MACHADO, L. La acuicultura y la calidad de agua. México: Safervo. 1990. p. 54

La reacción que ocurre es la siguiente:



Forma no ionizada.
Forma tóxica.
Productos de excreción de peces.
Degradación de materia orgánica.

Su velocidad de conjugación con el agua depende del pH.

Forma ionizada.
Forma no toxica.

Rodríguez³⁸ sostiene, que la toxicidad del amonio en forma no ionizada (NH_3), aumenta con una concentración baja de oxígeno, un pH alto (alcalino) y una temperatura alta. En pHs bajos (ácidos) no causa mortalidades. Una concentración alta de amonio en el agua causa bloqueo del metabolismo, daño en las branquias y en tejidos vivos, afecta el balance de las sales, produce lesiones en órganos internos, inmunosupresión y susceptibilidad a enfermedades, reducción del crecimiento y la sobrevivencia y exoftalmia (ojos brotados) y una concentración baja de amonio provoca una pérdida de pigmentación, secreción de mucus e irritación de branquias y asfixia.

Nitritos: Steves³⁹ afirma, que es un parámetro de vital importancia por su gran toxicidad y por ser un poderoso agente contaminante. Se generan en el proceso de transformación del amoniaco a nitritos y su toxicidad depende de la cantidad de cloruros de la temperatura y de la concentración de oxígeno en el agua.

En los peces, las concentraciones altas de nitritos causa la enfermedad de la sangre marrón (producidas por la oxigenación de la hemoglobina a meta-hemoglobina de color pardo) evitando el transporte de oxígeno a los tejidos, lo cual crea una anemia crónica. Por lo tanto, es necesario mantener la concentración por debajo de 0,1 ppm, valores cercanos a 0,15 ppm causan estrés en las truchas y cuando se acercan a 0,23 ppm, pueden ser letales.

³⁸ RODRÍGUEZ, R. Toxicidad con amonio en peces. Chile: America. 1995. p.168

³⁹ STEVES, F.A. Evaluation of the Toxicity with Saltpeters in Fish, Washigton: Toxin. 1991. p. 78

Nitratos. Golstein⁴⁰ reporta, que la fase final del ciclo del nitrógeno en el acuario es la transformación de los nitritos en nitratos efectuada por las bacterias nitrobacter. Los nitratos son sin duda la sustancia de menor toxicidad para los peces si se compara con el amoníaco y los nitritos, si bien no es tan peligrosa en concentraciones elevadas, hacen a los peces más susceptibles de contraer enfermedades y disminuyen los niveles de reproducción. Otro posible efecto es la posibilidad de causar un shock de nitratos con niveles superiores a los normales, los niveles de nitratos deben tratar de mantenerse en niveles de 0 mg/L a 10 mg/L.

Alcalinidad. Steves⁴¹ sostiene, que es la concentración total de bases de carbonatos o bicarbonatos en el agua. Los valores de alcalinidad y dureza son aproximadamente iguales. La alcalinidad produce una intoxicación en los peces por el sulfato de cobre encontrado en el alguicida (en bajas alcalinidades aumenta la toxicidad de este compuesto).

Sólidos disueltos en suspensión. Reichholf⁴² cita, que al aumentar la turbidez del agua, disminuye el oxígeno disuelto en ella y se controlan con sistemas de desarenadores y filtros. De acuerdo con la concentración de sólidos disueltos, las aguas se clasifican así:

Aguas limpias: Sólidos menores a 25 mg/L.

Aguas intermedias: Sólidos entre los 25 – 100 mg/L.

Aguas lodosas: Sólidos mayores de 100 mg/L.

Sandoval⁴³ afirma, que el agua para cultivos de truchas debe tener concentraciones de sólidos menores de los 30 mg/L, concentraciones por encima afectan el balance osmótico y el funcionamiento branquial (hiperqueratomas) taponamiento de las branquias.

⁴⁰ GOLSTEIN, Edward. Avaliação da toxicidade aquática, Brazil: Arch. 1994. p.p. 85 – 87

⁴¹ STEVES, Francis. Op. cit.,

⁴² REICHHOLF, Joseph, El agua, la vida y la ciencia. Barcelona: Asto, 1979. p. 12

⁴³ SANDOVAL, Pool. Las truchas y su cultivo, Bogotá: incoder, 1998. p. 58

Fosfatos. Según Straus⁴⁴, su valor total debe fluctuar entre 0,6 y 1,5 ppm, este valor no debe ser superior a las 10 ppm porque causa letárgica e inapetencia. Su toxicidad aumenta a pHs ácidos.

4.4 ASPECTOS CLÍNICOS Y LESIONÁLES.

Ghittino⁴⁵ afirma, que en los accidentes de tipo sobreagudo algunos cuadros locomotores revelan una alteración nerviosa que precede a la muerte. En las formas agudas, que pueden durar varios días, se manifiesta una sintomatología respiratoria nerviosa acompañada de un cuadro clínico de estrés seguido de un desenlace fatal, estando expuesta la branquia a todos los componentes ambientales acuáticos. Es normal constatar que la mayoría de las intoxicaciones afectan al aparato respiratorio. Las lesiones comienzan generalmente por un edema branquial que entraña un desprendimiento del epitelio de las laminillas branquiales, del moco secretado. Las células pilares pueden desaparecer y producirse telangiectasias laminales. Paralelamente, aparecen lesiones de degeneración hepática y renal, siendo estos órganos los primeros afectados en los precensos detoxicación.

Las alteraciones crónicas corresponden principalmente a las intoxicaciones debidas a insecticidas y herbicidas, bifenoles clorados y mercurio, las enfermedades por causas físico-químicas del agua (Tablas 1 y 2):

⁴⁴STRAUS, T. Determination of inhibition of the mobility for toxicidade in fish, London: Mason, 1987. p. 69

⁴⁵ GHITTINO, P. Tratado de las enfermedades de los peces, Zaragoza: Acribia, 1991. p. 353

Tabla 1. Rangos y Etiología de los parámetros físicos para Trucha Arco Iris

| Parámetros | Rangos Óptimos | Etiología en rangos inferiores | Etiología en rangos superiores |
|----------------|----------------|--|---|
| T° | 12-18°C | Anorexia. Aceleración Respiratoria | Choque Térmico Estrés. Mayor consumo de oxígeno. Inapetencia |
| O ₂ | 7 - 9 ppm. | Asfixia. Estrés. Aceleración opercular | Irritación Branquial. Burbuja de aire. Muerte. |
| pH | 6,5 a 8 | Irritación branquial. Hipersecreción de Moco. Hemorragias cutáneas. Toxicidad Muerte | Irritación de piel y branquias. Hipersecreción de Moco. Hemorragias cutáneas. Aumento de amoniaco (NH ₃) Muerte |
| Sólidos | <30 mg/L | Quemaduras Necrosis por los rayos de luz directos | Irritación Branquial Disminución de O ₂ . Aumento T° |

Fuente: GHITTINO, P. Tratado de las enfermedades de los peces, Zaragoza: Acribia, 1991. p. 354

Tabla 2. Rangos y Etiología de los parámetros químicos para cultivo de Truchas Arco Iris.

| Parámetros | Rangos Óptimos | Etiología en rangos inferiores | Etiología en rangos superiores |
|-----------------|----------------|--|---|
| Nitritos | < 0,1 mg/L. | _____ | Lesiones branquiales Hipertrofia Laminar Asfixia |
| Nitratos | 0 – 10 mg/L | _____ | Susceptibles a enfermedades |
| Alcalinidad | 8 – 60 mg/L | Irritación de piel y branquias. Hipersecreción de Moco. hemorragias cutáneas Muerte | _____ |
| Fosfatos | 0,6 y 1,5ppm | _____ | Tóxico |
| CO ₂ | <2 ppm | _____ | Necrosis Nefrocancinosis inflamación de riñón Anemia Acidificación de agua. |
| Dureza | 70-300 mg/L | _____ | Tóxico Saprolegnia |
| Amonio | 0,01-0,015ppm | _____ | Tóxico Hipertrofia Laminar |
| Sulfatos | < 18 ppm | _____ | Tóxico |

< Valores tolerables menores que.

> Valores por encima de o mayores de, (ppm): partes por millón (equivalente a mg/L) mg/L: miligramos por litro.

Fuente: GHITTINO, P. Tratado de las enfermedades de los peces, Zaragoza: Acribia, 1991. p. 355

4.5 CLASIFICACIÓN DE LOS INSECTICIDAS

El Instituto Colombiano Agropecuario ICA⁴⁶ clasifica la toxicidad de los insecticidas según las siguientes características:

- **Dosis letal media.** Los insecticidas tienen diferentes grados de toxicidad en animales vertebrados y de acuerdo a ella en Colombia se dividen en tres categorías según su dosis letal media (DL50) dosis necesaria para matar el 50% de una población de animales, dentro de un cierto periodo de tiempo y bajo condiciones de laboratorio se presenta en mg o Kg de peso del animal.

Categoría I – Altamente tóxico: Incluye aquellos compuestos cuya DL50 está entre 0 – 50 mg/Kg de peso.

Categoría II – Medianamente Tóxico: Compuesto cuya DL50 está entre 50 – 500 mg/Kg de peso.

Categoría III – Moderadamente Tóxico: Compuestos cuya DL50 es mayor de 500 mg/Kg de peso.

- **Grado de peligrosidad y absorción.** Los insecticidas también pueden clasificarse de acuerdo a su grado de peligrosidad y de absorción a través de la piel, algunos insecticidas que pueden usarse sin ropa adecuada o equipos especiales son; Difocol, Mirex, Azufre, Malation, Tetredifon, Carbaryl Pertane y Metaldehido.

Los insecticidas que pueden ser absorbidos directamente a través de la piel en cantidades nocivas y cuando se trabaja con ellos, en cualquier forma, debe tomarse precauciones extremas y evitar el contacto con la piel, usando vestidos apropiados y máscaras. Entre ellos se encuentran; Aldrin, Dimetoato, Diclorvos Endosulfan, Binapacril, Toxafeno, Clordano, Heptacloro, Diacinol Lindano y Diedrin.

Entre los insecticidas que pueden ser fatales si se ingieren, inhalan o entran a través de la piel deben ser aplicados únicamente por personas que están completamente familiarizadas con los riesgos que implica su manejo asumiendo

⁴⁶ INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA. Guía para el Control de Plagas. Bogotá: Inico, 1987. pp. 1 – 12.

con toda la responsabilidad su uso, entre estos están; Aldicarb, EPN, Azinfosmetil, Fosfamidon, Diclotos Metilparation, Disulfoton, Mevinfos, Carbofurán, Monocrofos, Endrin y Paration etílico.

4.5.1 Formulaciones comerciales. Todos los Insecticidas disponibles en el mercado se presentan en diferentes tipos de formulaciones comerciales. El usuario debe estar familiarizado con ellos, porque son uno de los puntos de mayor importancia en las labores fitosanitarias.

| | | | |
|----|--------------------------|-----|--|
| P | Polvo | CMA | Concentrado miscible en Agua |
| Gr | Granulado | CS | Concentrado Soluble en Agua |
| E | Concentrado Emulsionable | F | Pasta Fluida |
| PS | Polvo Soluble | BV | Concentrado para aplicar bajo volumen |
| PM | Polvo Mojable | UBV | Concentrado para Aplicar a Ultra Volumen |

Cada producto disponible en el comercio, ofrece al usuario diferentes tipos de envase y empaque. Sin embargo, sea cual fuere su presentación todos esta acompañados por una etiqueta en la cual, presentan las siguientes indicaciones:

- **Composición del producto.** Indica los porcentajes en volumen y peso de los ingredientes activos y de los materiales inertes o de relleno. Los materiales activos están identificados por su nombre técnico.
- **La categoría toxicología del compuesto.** Para determinar en base a ella si tiene en cuenta las precauciones necesarias que afirma el producto.
- **Las reglamentaciones Colombianas.** Estas exigen que la firma fabricante incluya en la etiqueta una serie de indicaciones generales sobre la dosis, cultivos, restricciones y cuidados para el producto. De igual forma debe afirmar los nombres comunes y científicos de las especies de insectos o artrópodos que pueden ser controlados. Las recomendaciones para dosis deben ser reportadas en base al sistema métrico decimal.

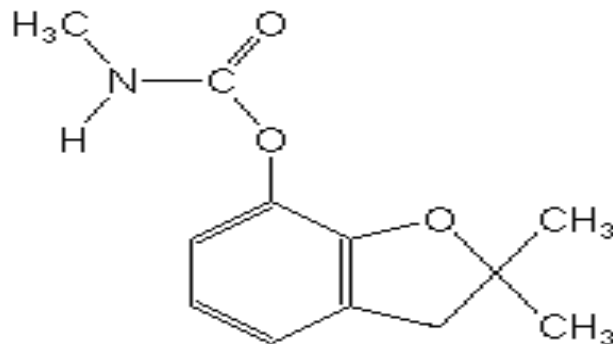
4.5.2 Generalidades de los carbamatos. La National Academy of Sciences (NASc)⁴⁷ menciona, que los carbamatos son organofosforados, siendo estos inhibidores de la colinesterasa pero con varias diferencias con estos. Los

⁴⁷ NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Manejo y Control de Plagas e Insectos. México: Noriega, 1988. pp. 389 - 393

carbamatos causan una inhibición reversible de dichas enzimas porque la unión enzima-carbamil es muy estable, lo que origina un síndrome clínico más benigno con una duración más corta en las intoxicaciones por insecticidas organofosforados, ésta unión es irreversible. A diferencia de los organoclorados tienen muy mala penetración al sistema nervioso central, por ello la presentación clínica de la intoxicación tiene pocos efectos sobre este sistema ya que no pueden presentar convulsiones. Los valores de colinesterasa en suero y hematíes retornan a su valor normal a las pocas horas, por ello en muchas ocasiones su determinación será normal cuando se trata clínicamente.

Dufol⁴⁸ afirma, que estos compuestos tienen una estructura química (Figura 2) basada en el ácido carbámico, con una serie de radicales que le dan la acción anticolinesterásica, en el caso de añadir un radical bencénico al éter de oxígeno o bien un hidrógeno o un radical metomilo al átomo de nitrógeno dando lugar a los metil y dimetilcarbamatos. Los ditiocarbamatos tienen actividad antifúngica y herbicida, con poco efecto anticolinesterásico.

Figura 2. Estructura química del Furadan.



Insecticidas carbamatos

| | | | |
|-----------|------------|-------------|-----------|
| Aldicarb | Isolan | Propoxur | Metiocarb |
| Aminocarb | Carbofurán | Carbaryl | Dimetilan |
| Oxamyl | Metomilo | Mexacarbate | |

⁴⁸ DUFOL, Arey. *et. al.* toxicología Clínica., Barcelona: Ibérica, 1.993. pp. 233-253.

Chambers⁴⁹ sostiene, que no hay diferencias importantes con respecto a la sintomatología encontrada en las intoxicaciones por carbamatos, sin embargo, suele haber un predominio de síntomas de muscarinismo debido a su mínima penetración en el sistema nervioso central, siendo la duración de estas manifestaciones menores. Como consecuencia de lo anterior, se pueden producir efectos tóxicos en distintos órganos sobre todo en el parénquima renal (Riñón). La evolución suele ser favorable en la mayoría de los casos, siempre que no haya complicaciones intercurrentes, debido a la corta duración del efecto tóxico demostrando neurotoxicidad retardada por carbamatos, que es infrecuente y con recuperación completa en la mayoría de los casos

Cabrera *et.al*⁵⁰ afirman, que el carbofurán es altamente soluble en agua, se degrada por hidrólisis química bajo condiciones alcalinas. La fotodegradación y los microbios acuáticos pueden también contribuir a la degradación. El Carbofurán tiene un alto potencial para la contaminación de la agua subterránea, y se ha detectado en acuíferos y aguas superficiales.

4.5.3 Identificación del producto

Bayer Cropsciences afirma que:

El Furadan 3GR es un insecticida carbamato, efectivo contra una amplia gama de insectos masticadores de hojas y chupadores de tallos, posee una acción rápida de contacto en ingestión y sistémica. El efecto de control es prolongado y se identifica de la siguiente manera.

Nombre del Producto. FURADAN® 3GR.

Proveedor. Bayer CropSciences S.A. Bogotá, DC - Colombia.

Composición e Ingredientes. 2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il-etilcarbamato.

Identificación de los riesgos. Marca en etiqueta: Tóxico para los peces.

⁴⁹ CHAMBERS, J.E. Inhibition of acetylcholinesterase and aliesterases in fish, aquatic toxicology, New York: Mark, 1995. p. 311

⁵⁰ CABRERA. D. *et. al.* Determinación de los Compuestos Carbamatos: Carbofurán y Mancozeb; en Agua, Suelo y Cultivo de papa de la Vereda Jurado, Municipio de Pasto, Colombia 2005. p.p 30-31

Peligros para la salud de las personas. Efectos de una sobre-exposición aguda (por una vez), se presenta un aumento de secreciones nasales y bronquiales, náuseas, vómitos, diarrea.

Inhalación: Abundantes secreciones nasales y bronquiales.

Contacto con la piel: Ligero irritante de la piel.

Contacto con los ojos: Ligero irritante ocular.

Ingestión: Síntomas descritos arriba.

Efectos de una sobre-exposición crónica (largo plazo): Dolor de cabeza, debilidad, náuseas, contracción de las pupilas, visión borrosa, salivación excesivas y vómito.

Peligros para el medio ambiente. Muy tóxico para aves, peces e insectos.

Peligros especiales del producto. Inhibidor de la colinesterasa, Neurotóxico.

Propiedades físicas y químicas

| | |
|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Estado físico | Gránulos |
| Apariencia y olor | Color grisáceo, olor a mercaptanos. |
| Temperatura de descomposición | Termalmente estable bajo 80 °C |
| Punto de inflamación | No Inflamable |
| Propiedades explosivas | No explosivo |
| Densidad a 20°C | No corresponde por ser sólido |
| Solubilidad en agua y otros solventes | Soluble en agua. |

En caso de combustión puede producir óxidos de nitrógeno, monóxido y dióxido de carbono.

Información toxicológica. Toxicidad aguda (LD50).

- ❖ Oral ratas 80 mg.
- ❖ Inhalatorio ratas (4h): 0.75 mg/L.
- ❖ Efectos locales: Irritante ligero de los ojos y la piel.
- ❖ Sensibilización alérgica: No produce sensibilización

Información ecológica. Contamina aguas de riego o de uso doméstico. Bio-acumulación. Muy bajo potencial de bioacumulación.

Efectos sobre el ambiente.

- ❖ LD50 aves 60 mg/kg.
- ❖ LD50 (96h) peces 22-29 mg/L.
- ❖ Tóxico para abejas.

Recomendaciones y uso. Los desechos resultantes pueden ser eliminados en un entierro autorizado por la entidad local competente, por incineración controlada ó, de acuerdo a la recomendación de Bayer CropSciences para casos específicos. No contamine alimentos, forraje o agua al almacenar o desechar el producto.

Aplicación. La época y número de aplicación dependen del estado en que se encuentre la plaga en el momento de la siembra. (tabla 3) Al preparar el suelo, se busca las cámaras pupales, larvas o adultos en tubérculos o huevos en tallos viejos. Si se encuentran pupas y/o adultos se hace la primera aplicación a la siembra, la segunda aplicación se realiza al germinar y la tercera aplicación en el aporque (adición de la segunda capa de suelo)⁵¹.

⁵¹ BAYER CROPSCIENCES, (online) (Bogotá, D.C), 25 Enero 2004. disponible en internet: [http://www.afipa.cl/afipa/bayer crop/carbofuran.pdf](http://www.afipa.cl/afipa/bayer%20crop/carbofuran.pdf)

Tabla 3. Recomendaciones del producto de plagas a erradicar

| CULTIVO | PLAGA | DOSIS |
|------------------------|--|---|
| Papa | Gusano blanco: <i>Premnotrypes vorax</i> Pulguilla: <i>Epitrix sp.</i> Tostón: <i>Liriomyza quadrata</i> | 25 - 30 Kg/ha 25 Kg/ha 25 Kg/ha |
| Maíz | Cucarro: <i>Euetheola bidentata</i> | 25 Kg/ha especialmente en lotes que procedan de arroz o pastos, cuando haya un insecto por metro cuadrado |
| Habichuela y tomate | Mosca blanca: <i>Trialeurodes vaporariorum</i> | 20 - 30 kg/ha, dando protección al cultivo desde la siembra hasta los 42 - 47 días respectivamente |
| Arveja | Minador del tallo: <i>Melanogromyza lini</i> | 20kg/ha dando una protección al cultivo desde la siembra hasta la iniciación de la floración (49 días). |

Fuente: Bayer Corpscienses

4.5.4. Efectos negativos de los insecticidas en el agua.

Carlson⁵² menciona, que la contaminación en aguas con insecticidas se da por diferentes vías, entre las más importantes están:

- Arrastre del contaminante en terrenos que han sido sometidos a la acción de los Insecticidas, ya sea por la acción de las aguas lluvias, o por la utilización de la misma agua de riego de los cultivos.

⁵² CARLSON. G. *et.al.* Pesticides and Pest Management En: Carlson, Zilberman and Miranowski. Agricultural and Environmental Resource Economics. Oxford University: Llon, 1993. p.p 125

- La fumigación aérea realizada cerca de los cursos de agua (quebradas, arroyos, ríos, lagunas, lagos).
- La precipitación de aguas lluvias que lavan las partículas de Insecticidas suspendidas en la vegetación.
- Los derrames accidentales que ocurren circunstancialmente en fábricas o depósitos de Insecticidas.
- La utilización de las corrientes de agua para la limpieza y lavado de materiales sobrantes.

Suseela⁵³ afirma, que está demostrado que las concentraciones letales para diferentes formas de vida acuática son relativamente bajas, provocando daños serios sobre el fitoplancton, disminuyendo su capacidad de liberación de oxígeno, afectando por consiguiente los niveles de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua.

Zagatto⁵⁴ sostiene, que la presencia de sedimentos en suspensión en el cuerpo de agua, facilita la movilización del contaminante, debido a la capacidad de intercambio superficial entre la partícula suspendida y el mismo, siendo éste el principal vehículo de movilización de los contaminantes químicos en cuerpos de agua. Ese fenómeno ayuda a explicar la presencia de organoclorados en lodos y sedimentos teniendo en cuenta su baja solubilidad.

Ferreira⁵⁵ reporta, que los residuos de insecticidas pueden desplazarse a lo largo de cuerpos de agua a grandes distancias, los cuales son un grave peligro para el suministro de agua potable y para el agua usada como riego. Igualmente, los peces procedentes de estas aguas contaminadas, especialmente de los cuerpos más quietos como los lagos y lagunas, pueden acumular Insecticidas en niveles que los hacen poco aptos para el consumo humano.

⁵³ SUSEELA, Kelvin. Toxic effects of insecticide, New York: Lion, 1994, p. 26

⁵⁴ ZAGATTO, Philip. Toxicidade em águas, São Paulo, Brasil: Gretto, 1991, p. 20

⁵⁵ FERREIRA, Harold. Toxicidad aguda y contaminación ambiental con insecticidas para peces, Madrid: Rets, 1998, p. 69

4.6 HISTOLOGIA EN PECES

Según Albelo⁵⁶, la histología es la rama de anatomía que estudia la organización de los tejidos orgánicos considerando su estructura microscópica y ultra-microscópica desde el punto de vista morfológico y funcional. La parte de la histología que se reserva al estudio de los órganos o tejidos patológicos toma el nombre de histología patológica o anatomopatológica.

El Departamento de Histología y Biología Celular⁵⁷ sostiene, que el estudio de la biología celular radica en que el cuerpo de la mayoría de las especies animales están formadas por millones de células. Cuando sufre alguna enfermedad, son las células las que responden a la agresión de un patógeno o una lesión. Las especies animales se originan de la fusión de dos células, el óvulo y el espermatozoide, que al unirse se divide repetidamente para formar más células y así llegar a desarrollar tejidos, órganos, aparatos y sistemas que conforman su cuerpo. La importancia de conocer la histología es que permite asomarse a un mundo microscópico, en el cual estudia las características propias de cada órgano. El saber la estructura y función de cada órgano en forma normal que permite más adelante entender la patología y otras disciplinas.

4.6.1 Estructura histológica en hígado de peces

Santos⁵⁸ reporta, que el hígado de teleósteos presenta los siguientes tipos celulares: hematocitos, células epiteliales de conductos biliares, células endoteliales, células lipídicas, macrófagos y células sanguíneas circulares. En algunas especies se observan células pancreáticas exocrinas (páncreas intra-hepático) distribuidas entre el parénquima hepático.

⁵⁶ ALBELO, Allen Histología. Gran Enciclopedia Medica. Madrid: Interamericana, 1980. p. 1207

⁵⁷ DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA Y BIOLOGÍA CELULAR. Histología y Biología celular. (online) (Guadalajara), 22 Febrero. 2004. Disponible en internet: <http://www.uag.mx/27/histologia/import.htm>

⁵⁸ SANTOS, Harris. Investigación de estudios histológicos pesqueros y agrícolas. Sao Paulo: Rtes, 1995.. p. 39

Según Andrey⁵⁹, los hepatocitos se establecen en las venas, los cuales normalmente presentan el espesor de dos células. El hepatocito posee un único núcleo, las células pueden observarse claramente y se localizan en el área central o en el polo celular sinusoide cuyo nucleolo es muy evidente con la técnica del ácido de Schiff (PAS) que se tornan de color rojo, el citoplasma de estas células revela un glicógeno que abastece la parte periférica en la porción al sinusoide.

4.6.2 Histología en branquias

Machado⁶⁰ afirma, que el conocimiento de los aspectos morfológicos de branquias de peces puede ofrecer conocimientos a proyectos de impacto ambiental, visto que este órgano respiratorio esta en contacto directo con el agua. La morfología de branquias se investiga usando microscopios ópticos. Las laminillas branquiales respiratorias son constituidas por una cámara de células epiteliales o células pilares que delimitan los espacios sanguíneos como los espacios inter-laminares y en el ápice de los filamentos se encuentran las regiones de producción de mucus.

4.6.3 Histología en piel

Rodríguez⁶¹ reporta, que la piel de los peces se constituye por una fina epidermis con células mucosas, membrana basal o tejido conjuntivo flexible y dermis superficial fina. La piel contiene una membrana con pigmentos concentrados principalmente en determinadas regiones como la línea lateral, manchas oculares o epiteliales. La parte interna de la dermis esta formada por fibras de colágeno y se divide en; una externa con fibras longitudinales finas y empaçadas y una interna con fibras longitudinales unidas, largas y rectas. Las fibras de colágeno se presentan en grandes cantidades en la línea lateral y en la parte interna de la dermis entre unas dos cámaras de fibras de colágeno con fibras adiposas y una franja espesa de pigmentos de color castaño oscuro.

⁵⁹ ANDREY, Tyler. Histología animal, México: Torres, 1996, p. 49

⁶⁰ MACHADO, Stevan. Descripción Histológica y Estructural de Branquias. Universidad Federal de Panamá. Departamento de Biología Celular. Panamá: Faros, 1992. p. 96

⁶¹ RODRÍGUEZ, Byron. Análisis Microscópica de piel en peces. Brasil: Minus, 1995. p.105

4.7 CROMATOGRAFIA

Según Horts⁶², la cromatografía es el método analítico que se utiliza para la separación de productos químicos, en particular de los químicamente semejantes, y que por esta razón son difícilmente separables. El nombre de la cromatografía se debe al botánico ruso M.S Cvet que hizo una extracción de hojas verdes con acetona y dejó fluir las soluciones a través de un tubo con una columna de azúcar finamente dividido, con la que obtuvo zonas verdes y amarillas con los pigmentos de las hojas separados (clorofila a y b, caroteno, xantofila).

Guío⁶³ sostiene, que todos los procedimientos cromatográficos se basan en que la mezcla de sustancias que se investigan se reparten en mayor o menor proporción entre una fase estacionaria (fija) y una fase móvil, por absorción reparto o intercambio. La fase estacionaria puede ser un sólido (absorbente en la cromatografía de absorción; intercambiador de iones de cromatografía de intercambio iónico), o una delgada película líquida depositada en las partículas de este sólido (cromatografía de reparto). La fase móvil portadora de las sustancias que se investigan, debe ser un líquido inmiscible con la fase estacionaria o un gas inerte (cromatografía de gases). La elección de cada una de las fases y del método cromatográfico adecuado depende del tipo y la calidad de mezcla de sustancias que se desean separar.

⁶² HORTS, Hamilton. Analysis of Chromatographic in waters of agricultural use. Philadelphia: Gross, 1984. p. 141

⁶³ GUÍO, Manuel. Control de plaguicidas, España: Lorens, 1992. p.44

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL SITIO.

El presente trabajo se realizó en la Estación de Guairapungo, adscrita a la Corporación Autónoma Regional de Nariño (CORPONARIÑO) (Figura 3.).

Figura 3. Estación piscícola Guairapungo el Encano.



La estación piscícola Guairapungo está ubicada en la vereda Casapamba corregimiento del Encano, a 26 Km al oriente del municipio de Pasto. El corregimiento del Encano se encuentra a una altitud de 2875 m.s.n.m. con una temperatura promedio de 11°C y una humedad relativa del 87%. La Estación Piscícola se encuentra ubicada en cercanías al Lago Guamúes, localizada en las coordenadas 01°09' de Latitud Norte y 77°07' de Longitud Oeste⁶⁵.

⁶⁵ RIASCOS, Eduardo. *et. al.* Manejo Técnico de la Estación Piscícola de Guairapungo en el Lago Guamúes Municipio de Pasto. Pasto. 2000, p.20. Informe de Pasantía (Ingeniería en Producción Acuícola) Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Ingeniería en Producción Acuícola.

5.2 PERIODO DE ESTUDIO

La etapa de estudio y procesamiento de resultados comprendió desde la selección de ejemplares, adaptación y estandarización de manejo; se desarrollo durante seis meses en época de verano comprendidos entre el mes de Mayo hasta el mes de Octubre del año 2005. En este periodo la estación de Guairapungo alcanza a tener animales de tallas y pesos adecuados para este experimento. Además de observar que a los terrenos cercanos a la estación se encuentran destinados para uso de la ganadería y no para cultivos de papa.

5.3 MATERIAL BIOLÓGICO

La especie en estudio se preseleccionó, según las características morfológicas externas de sanidad descritas por Velasco⁶⁶. El número de animales utilizados en esta investigación fue de 10 ejemplares de trucha arco iris *O. mykiss* por acuario en estado juvenil, con talla promedio de 15,8 cm \pm 0,52 (LT) y con un peso de 34,7 gr \pm 0,49 (Anexo N) capturados de estanques en tierra de la estación piscícola.

5.4 INSTALACIONES, EQUIPOS Y UTENCILIOS

Se utilizaron cuatro acuarios en vidrio de 0,50 m de largo por 0,25 m de ancho y 0,25 m de alto, con una capacidad de 31 litros. El monitoreo de los parámetros físico químicos se realizó mediante equipo analítico de aguas Espectrofotómetro DR- 2010 de Hach.

Materiales, insumos y equipos requeridos:

- Chinchorro de 30 m, de largo, por 3 m de ancho y 1/2 pulgada de ojo de malla.
- Nasas de 0,40 * 0,50 metros.
- Baldes con capacidad de 12 litros.
- Carreta (transporte de materiales para pesca).
- Ictiómetro

⁶⁶ VELASCO. Op. cit., p. 252.

- Azul de metileno 1 litro.
- Sal marina 1 kilo.
- Silicona 1 tubo.
- 4 acuarios con capacidad de 31 litros.
- 4 motores para aireación marca NDUP – 3500, 115 Vol, 60 Hz, 4,5 Watts.
- Equipo de disección
- Bandeja de disección.
- Beaker de 50ml.
- Formaldehído al 10% buffer pH 7 1 litro.
- Furadan 3Gr ®
- Papel secante.
- Balanza analítica con precisión de 0,0001 gr
- Balanza gramera con aproximación de 1 gr – 2000 gr
- Balanza gramera con aproximación de 0,1 gr – 150 gr
- Estereoscopio de microfotografía marca Nikon AFX-DX. Smz-U. Zoom 1:10.
- Espectrofotómetro DR- 2010 de Hach
- Cámara digital 8 Sony TVR-250. Zoom 700X

5.5 PLAN DE MANEJO

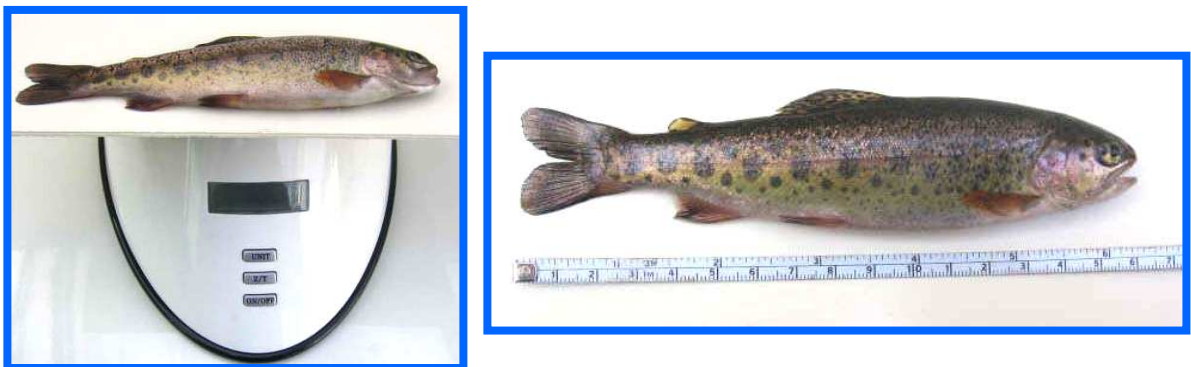
5.5.1 Adecuación de equipo. A los cuatro acuarios se les verificó el sellamiento con silicona para evitar fugas de agua, posteriormente se realizó limpieza y desinfección con sal marina en proporción de 40 g/m³ de agua y azul de metileno a una concentración de 50 a 100 ppm con una exposición de 24 horas para eliminar microorganismos patógenos.

5.5.2 Aireación. Se utilizaron cuatro motores para aireación marca NDUP – 3500, 115 Vol, 60 Hz, 4,5 Watts, con el fin de mantener la aireación del agua de los acuarios asegurando la oxigenación permanente al material biológico.

5.5.3 Captura y transporte. Los peces fueron capturados de los estanques excavados por medio de chinchorro y nasas. Posteriormente se trasladaron al laboratorio con el fin de realizar la biometría respectiva (Figura 4). Finalmente se situaron en los acuarios.

5.5.4 Acondicionamiento de los animales y dosificación. Los animales se aclimataron por un periodo previo de 10 días y se suspendió el alimento 24 horas antes del experimento para evitar al vomito de los animales afectando la calidad de agua. Posteriormente a tres de los cuatro acuarios se adicionó Carbofurán en dosis de 14 mg/L, 18 mg/L y 22 mg/L, estas dosis se suministran para corroborar la toxicidad que afirma el producto (22 mg/L a 29 mg/L).

Figura 4. Pesaje y medición de animales



5.5.5 Seguimiento y observación clínica. Suministradas las diferentes dosificaciones, en los peces se observó el comportamiento clínico toxicológico a partir de cero horas hasta las 96 horas de exposición DL50, tiempo recomendado por la Organización de Normas Internacionales ISO⁶⁷. La evolución del comportamiento de los peces se verificó y registró por medio de cámara de video digital SONY. Zoom 700X. Posteriormente a los animales muertos se les realizó

⁶⁷ ORGANIZACIÓN DE NORMAS INTERNACIONALES (ISO). Op. cit.,

un examen de necropsia siguiendo el protocolo descrito por Reimschuessel *et al*⁶⁸ con el fin de tomar muestras de piel, branquias e hígado para su respectiva fijación en formaldehído al 10% con buffer 7 y tinción en el protocolo Histopatológico con Hematoxilina y Eosina (Anexo A). Realizadas las placas histológicas se procedió a la toma de macrofotografías con una cámara digital NIKON E-950 incorporada a un microscopio NIKON ECLIPSE E-200 a objetivos de 40X. Las microfotografías fueron editadas con un software Adobe fotodeluxe versión 5.0.

5.5.6 Análisis de factores fisicoquímicos. Se efectuó un análisis físico químico en el laboratorio de aguas de la Empresa de Obras Sanitarias de Pasto EMPOPASTO SA. E.S.P. de muestras de agua (2000 ml) de cada uno de los tratamientos.

5.5.7 Análisis cromatográfico. Manualmente se tomaron cuatro muestras de agua de la quebrada Casabamba que abastece a la estación de Guairapungo, utilizando recipientes de plástico con capacidad de dos litros, para posterior análisis en el laboratorio de Salud Pública del Instituto Departamental de Salud de Nariño, y determinar la concentración de Carbofurán en el agua mediante protocolo lovibond (Anexo O).

5.6 TRATAMIENTOS.

Se evaluaron cuatro tratamientos con ocho replicas por tratamiento de la siguiente forma:

T0 = Control, libre de Carbofurán.

T1 = Carbofurán con 14 mg/L.

T2 = Carbofurán con 18 mg/L.

T3 = Carbofurán con 22 mg/L.

Cada tratamiento estuvo constituido por ocho replicas con 80 animales para un total de 320 animales. Los tratamientos uno, dos, y tres, contienen grado menor a la

⁶⁸ REIMSCHUESSEL, R *et al*. Necropsy examination of fish. The veterinary clinics of North America. New York: medic, 1988. p. 431

dosis letal que presenta el Carbofurán para peces que el producto afirma en su etiqueta.

5.7 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el análisis de la variable calidad de agua se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) utilizando ocho replicas por tratamiento con el propósito de establecer las diferencias estadísticas significativas. Para las variables tasa de mortalidad y observación clínica e histopatológica fueron sometidas a un análisis estadístico de tipo descriptivo.

El anterior diseño se representó mediante el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = respuesta de la i ésima unidad experimental que recibe el j taésimo tratamiento.

μ = media común para todas las observaciones (unidades experimentales)

T_j = efecto del j taésimo tratamiento.

ϵ_{ij} = error experimental.

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) en la variable de calidad de agua, para establecer diferencias estadísticas entre los cuatro tratamientos se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey en aquellos tratamientos donde se encontraron diferencias significativas utilizando un software estadístico *statgraphics plus* versión 5.1.

5.8 FORMULACION DE HIPÓTESIS

Para la presente investigación se planteo la siguiente hipótesis.

Prueba de hipótesis para los tratamientos.

Hipótesis nula $H_0 = \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$. El efecto medio de los tratamientos es igual.

Hipótesis alterna $H_1 = \mu_j = \mu_{j'}, j \neq j'$. Existe por lo menos un tratamiento que presenta un efecto medio diferente a las variables a evaluar.

5.9 VARIABLES EVALUADAS

Las variables evaluadas fueron:

Tasa de mortalidad. Se determinó por monitoreo permanente y se cuantificó de acuerdo al número de peces que no expresaban movimientos autónomos, en un determinado periodo de tiempo en cada uno de los tratamientos.

Observación clínica e histopatológica. Se describió la etología observada desde las cero horas hasta las 96 horas (exposición al insecticida) y se tomaron muestras de piel, branquias e hígado, para fijación y procesamiento histopatológico, en cada uno de los tratamientos.

Calidad de agua. Se tomaron muestras de cada tratamiento a razón de 2000 ml de agua para conocer los cambios ocasionados por el Carbofurán.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 TASA DE MORTALIDAD

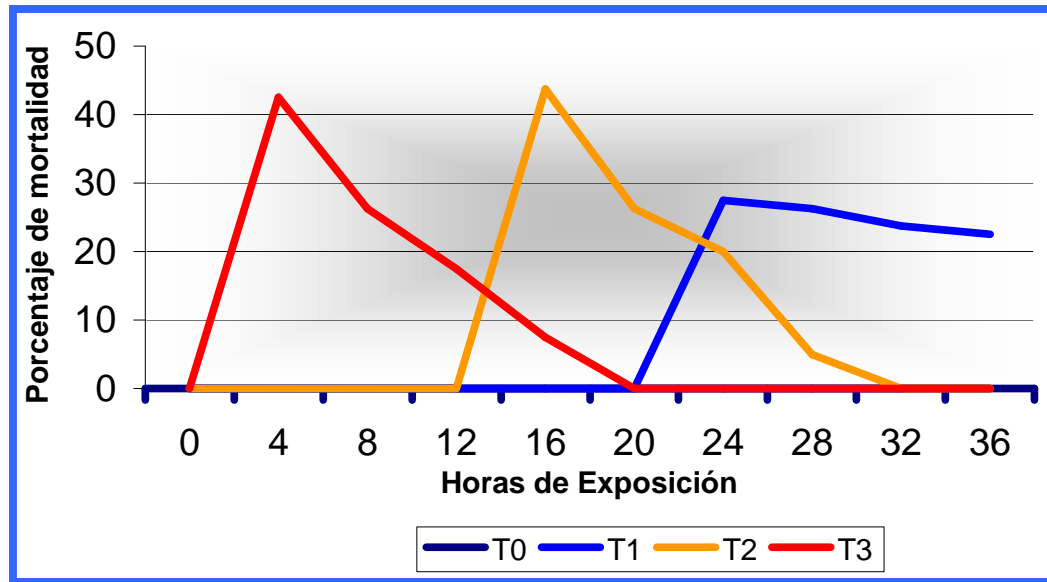
Este porcentaje se calculó desde la hora cero de comenzado el bioensayo, y a lo largo del mismo (Anexo B), se determinaron reacciones en los peces expuestos al insecticida. Por la acción del agrotóxico (intoxicación exógena) se observó un nado errático descoordinado y luego su permanencia en el fondo del acuario manifestando contracciones musculares espasmódicas que duraban algunos segundos e igualmente la identificación de movimientos operculares extensos y lentos que demostraron alteraciones del metabolismo evidenciando una intoxicación.

Para el T1 con dosis de 14 mg/L, se registró una mortalidad mayor al 50% de la población, en un periodo de tiempo de 24 a 36 horas. Para el T2 con dosis de 18 mg/L, se observó una mortalidad mayor al 50% de la población, en un periodo de 16 a 28 horas y para el T3 con dosis de 22 mg/L, se obtuvo una mortalidad mayor al 50% de la población en un periodo de 4 a 16 horas de realizado el bioensayo por lo tanto al utilizar dosis menores a las afirmadas por el producto también se encontraron mortandades del 100%, verificando que el agroquímico Carbofurán es muy tóxico para la vida acuática (Tabla 4), (Figura 5)

Tabla 4. Porcentaje de mortalidades entre tratamientos

| Tratamientos | T0 | T1 | T2 | T3 |
|--------------|----|-------|-------|-------|
| 0 Horas | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 Horas | 0 | 0 | 0 | 42,50 |
| 8 Horas | 0 | 0 | 0 | 26,25 |
| 12 Horas | 0 | 0 | 0 | 17,50 |
| 16 Horas | 0 | 0 | 43,75 | 7,50 |
| 20 Horas | 0 | 0 | 26,25 | - |
| 24 Horas | 0 | 27,50 | 20,00 | - |
| 28 Horas | 0 | 26,25 | 5 | - |
| 32 Horas | 0 | 23,75 | - | - |
| 36 Horas | 0 | 22,50 | - | - |

Figura 5. Porcentaje de mortalidad vs. Horas de exposición



Los individuos del T0 (control) reaccionaron normalmente a lo largo del bioensayo desplazándose por el tercio medio de la columna de agua nadando normalmente sin presentar mortandad.

Sandoval⁶⁹ demostró, que trabajando densidades de 20 animales por acuario con dosis de 5, 10, 20, 40 y 80 mg/L de Carbofurán los animales registraron una mortalidad de 5, 2, 14, 20 y 20 respectivamente, en un periodo de 96 horas, con temperatura de 22°C.

Peter⁷⁰ afirma, que el Carbofurán es muy tóxico colocando en riesgo la vida silvestre, principalmente para aves, peces e invertebrados causando carbamización reversible de la enzima acetilcolinesterasa, ocasionando contracciones y espasmos musculares como también la secreción de mucus y orina. Las concentraciones elevadas de acetilcolina pueden causar alteraciones sensoriales y conductuales, incoordinación y depresión en la función motora en el cerebro, a pesar de que los insecticidas de carbamato de N-metilo no penetran eficazmente al sistema nervioso central.

⁶⁹ SANDOVAL, Mal. Efectos Producidos por el Biocida Carbofurán® Sobre Larvas de *Physalaemus biligonigerus*. Argentina: Levi, 2003. p. 149

⁷⁰ PETER. S. et. al. Environ-Toxicol-Water-Quality. London: Part, 1995 pp 179

6.2 OBSERVACION CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA

6.2.1 Observación clínica. Las alteraciones en el comportamiento y la acción de defensa de los animales ante dicho insecticida son factores muy importantes para determinar el grado de toxicidad del Carbofurán LD50 (Tabla 6).

Dos horas de haber ocurrido la exposición al insecticida, se observó una hiperexcitación corporal con alteraciones en la natación con movimientos operculares lentos, estos comportamientos son normales en los peces por su actitud de alerta y huida a corrientes libres de tóxico. Estos cambios, en el comportamiento demostrados en los peces expuestos a concentraciones de 14 - 18 - 22 mg/L se semejan con lo obtenido por Ramírez *et al*⁷¹, quienes describen un incorrecto patrón de nado en el comportamiento e hiperactividad con concentraciones de 30 - 60 - 120 mg/L del herbicida Roundup de categoría II moderadamente tóxico.

Para el Tratamiento cero, no se observaron cambios en su comportamiento y los movimientos operculares realizados por medio de cronometría (Tabla 5) presentaron un promedio de duración de $116 \pm 0,01$ oscilaciones por minuto los cuales se encuentran dentro del rango citado por Rizzo⁷² quien reporta movimientos operculares entre $115 \pm 0,02$. A medida que el Carbofurán fue adicionado en los tratamientos T1 se registró un promedio de $88,5 \pm 0,7$, para el tratamiento T2 con un promedio de $86,0 \pm 0,01$, y para el tratamiento T3 con un promedio de $70,0 \pm 0,02$ (Anexo M).

Tabla 5. Movimientos operculares por minuto de acuerdo a cada tratamiento.

| Tratamientos | T0 | T1 | T2 | T3 |
|------------------------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Movimientos operculares por minuto | $116 \pm 0,01$ | $88,5 \pm 0,7$ | $86,0 \pm 0,01$ | $70,0 \pm 0,02$ |

Para los tratamientos T1, T2 y T3 evaluados con Carbofurán se observaron lesiones en los filamentos branquiales como coloración rojiza en las lamelas e irritación en las mismas; esto debido a que el insecticida produce basicidad en

⁷¹ RAMÍREZ, W.& RONDON. Ensayos sobre la caracterización clínica de la intoxicación por glifosato en alevinos de cachama blanca *Piaractus brachypomus*. Villavicencio: Orinoquia, 2003. pp. 70 - 100

⁷² RIZZO, Edmundo. Biología de peces de agua dulce. México: Panamericana, 2003. p. 347

el pH del agua. La secreción de mucus que se observó evita que se deteriore las células internas que ayudan al buen funcionamiento del sistema respiratorio; el cambio en la coloración de la piel impide la capacidad de las células pigmentarias y no actúan como protección y engaño ante posibles depredadores (Tabla 6).

De acuerdo con Ferguson⁷³, las lesiones macroscópicas en los filamentos branquiales son ocasionados con respuestas adaptativas con el fin de generar cambios en la perfusión branquial para reducir la exposición al tóxico.

En los tratamientos T1, T2 y T3, en la totalidad del cuerpo de los peces por la acción del agente contaminante se observó una producción moderada de mucus. Roberts⁷⁴ manifiesta, que esta es una respuesta conocida en los peces ante eventos como polución del medio acuático o exposición a sustancias irritantes.

Tabla 6. Alteraciones del comportamiento, signos clínicos y lesiones por tratamiento.

| Tto mg/L | Signos Clínicos | Tiempo |
|--|---|-------------------|
| 0 | No hay reacción | En las 96 horas |
| 14 | Hiperactividad | A partir de la 0h |
| | Presencia excesiva de mucus al sacrificio | A la 1h |
| | Actitud de alerta | A las 4h |
| | Movimiento opercular lento | A las 8h |
| | Actividad disminuida | De las 16 - 20h |
| | Reacción de huida | De las 18 - 24h |
| | Vomito | De las 20 - 32h |
| | Convulsiones pre-infarticas | De las 24 - 36h |
| Peces muertos, con opérculos abiertos branquias blanquecinas, perdida del color de la piel | De las 24 - 36h | |

⁷³ FERGUSON, Hill. Systemic pathology of fish. A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts. North Caroline: University press, 1989. p. 16

⁷⁴ ROBERTS, Ric. Fish pathology. Harcourt publisher limited. Ocanogan: Bould edition, 2001. p. 69

| | | |
|----|--|--|
| 18 | <p>Hiperactividad. Presencia excesiva de mucus al sacrificio. Actitud de alerta con actividad disminuida. Nado errático. Boqueo permanente. Quietud total, episodios de nado errático, perdida, eje de nado. Vomito. Convulsiones. Peces muertos con boca abierta, branquias blanquecinas, perdida de color de la piel presencia de mucus al hacer la necropsia.</p> | <p>A partir de las 0h A la 1h De las 2 a 4h A las 8h De las 8 - 12h De las 8 - 18h De las 12 - 28h De las 12 - 28h De las 12 - 28h</p> |
| 22 | <p>Hiperactividad. Boqueo permanente con respiración acelerada. Perdida de eje de nado, presencia de mucus. Prolapso de la papila urogenital. Quietud total. Vomito. Convulsiones. Peces muertos con boca abierta, branquias blanquecinas, perdida de color de la piel presencia de mucus al hacer la necropsia.</p> | <p>A partir de las 0h A partir de las 0h A partir de las 1h A partir de las 1h De las 2 – 4 h De las 4 – 16 h De las 4 – 16 h De las 4– 16 h</p> |

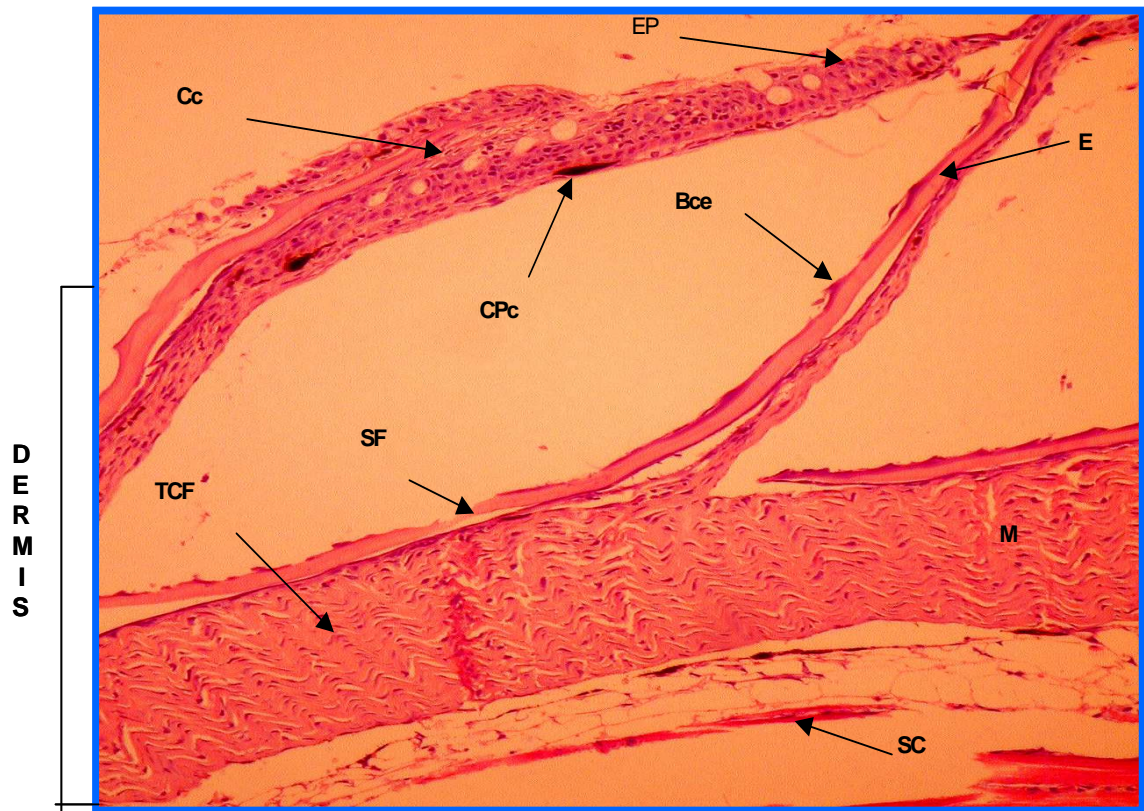
6.2.2 Observación histopatológica

- Tejido epitelial.** Para los tratamientos T1, T2 y T3 se observó que el Carbofurán al entrar en contacto con la piel (Figura 6), hace que el animal, como mecanismo de defensa, superponga las escamas una con otra, además dilata los conductos excretores de mucus y activa las células caliciformes incitando a una secreción excesiva de dicho mucus. De acuerdo con Ross⁷⁵, lo anterior estrecha los sacos fibrosos provocando una barrera protectora. La contracción del tejido conectivo fibroso y la subcutis previene que el insecticida ingrese a la piel y provoque quemaduras en el músculo. Lo cual comparado con lo citado por Domitrovic⁷⁶ los insecticidas causan lesiones neuróticas en el epitelio y algunos casos ocurre hiperplasia e hipertrofia epitelial transitoria a dosis letal media LD50-96 horas de exposición.

⁷⁵ ROSS, Gruys. Fish journal pathology. Iowa State: Railway, 2001. p. 16

⁷⁶ DOMITROVIC, H.G. El Empleo de los Peces Autóctonos para la Realización de Ensayos de Toxicidad. Argentina: Louis, 1997. p.p. 37 - 42.

Figura 6. Corte sagital del tejido epitelial *O. mykiss* H - E 5 μ 10x.



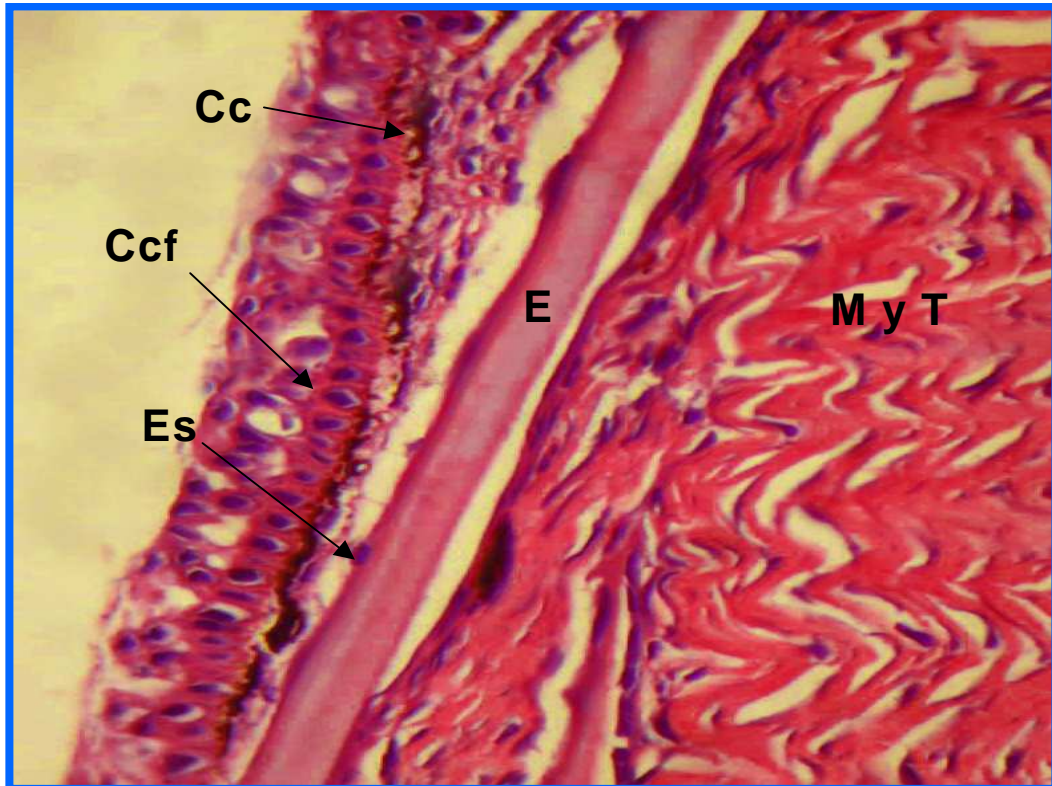
Cc: Células caliciformes, EP: epidermis, E: Escama, Bce: Borde cartilaginoso (de la escama), CPc: Células Pigmentarias (Cromatóforos), SF: Saco Fibroso, TCF: Tejido Conectivo Fibroso, M: Músculo, SC: Subcutis,

En los diferentes tratamientos expuestos al insecticida se observó un aumento de las células caliciformes y células planas, las cuales tienen como función el control de la absorción de nutrientes como también la secreción de mucus y los estromas que se encuentran en el tejido conjuntivo tienen como función sostener a estas células. Bernet *et. al*⁷⁷, reporta que el sistema parasimpático ayuda a reaccionar con todas las respuestas internas que se encuentran al estado de relajación, facilitando una digestión de los alimentos y disminuye la frecuencia cardíaca, haciendo que el organismo actúe rápidamente ante reacciones externas.

⁷⁷ BERNET, Daniel y otros. Histopathology in fish. Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. Madrid: Fish Dis, 1999. p. 34

Para el Tratamiento cero, (Figura 7) se evidencia las reacciones normales tanto de células planas como células caliciformes y algunos estromas conectivos sin cambios.

Figura 7. Corte sagital del tejido epitelial *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento cero.



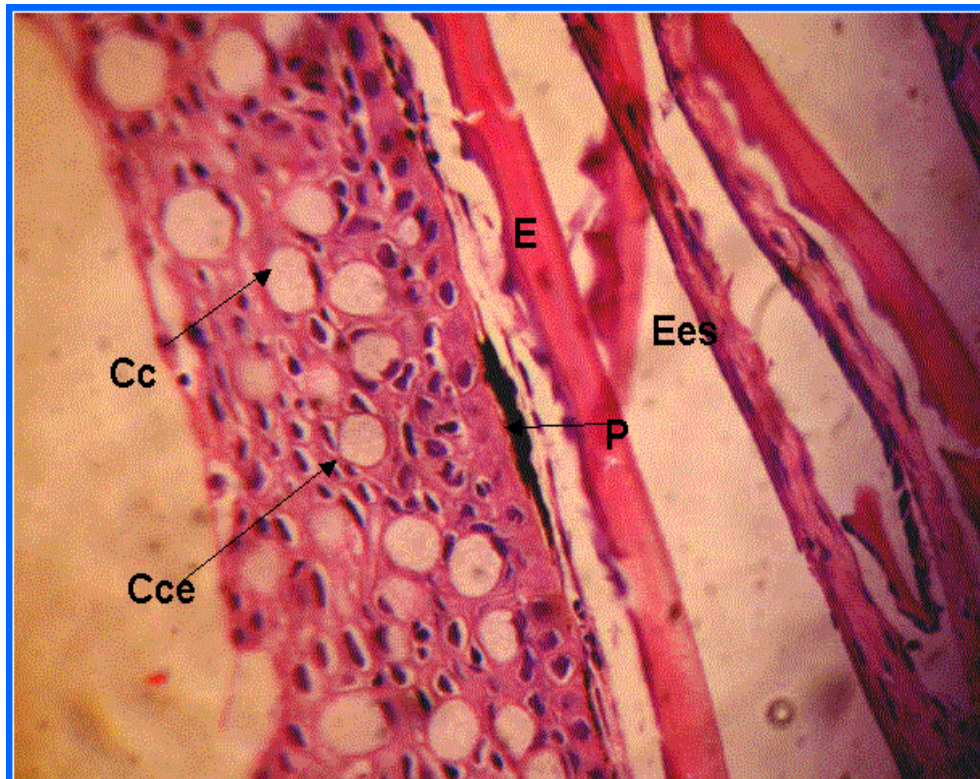
**Cc: Células cilíndricas, Ccf: Células caliciformes, Es: Estromas
E: Escama, M y T: Músculo y Tejido conectivo.**

Para el Tratamiento uno, (Figura 8) al encontrarse los animales a 14 mg/L de exposición al insecticida, la epidermis incrementó el número de células caliciformes produciendo una hiperplasia en las cuales, según Coutant⁷⁸, su proliferación es debida al estímulo del sistema parasimpático a una reacción de la acetilcolina del sistema nervioso central como defensa a la reacción del Carbofurán ocasionando una secreción de mucus moderada. Como también

⁷⁸ COUTANT, Chart. Gat is normative for fish pathogens. Dormant: Aquat. Animal, 1998. p. 101

Cardoso⁷⁹, observó que las células escamosas se encuentran en una etapa de transformación de metaplasia.

Figura 8. Corte sagital del tejido epitelial *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento uno.



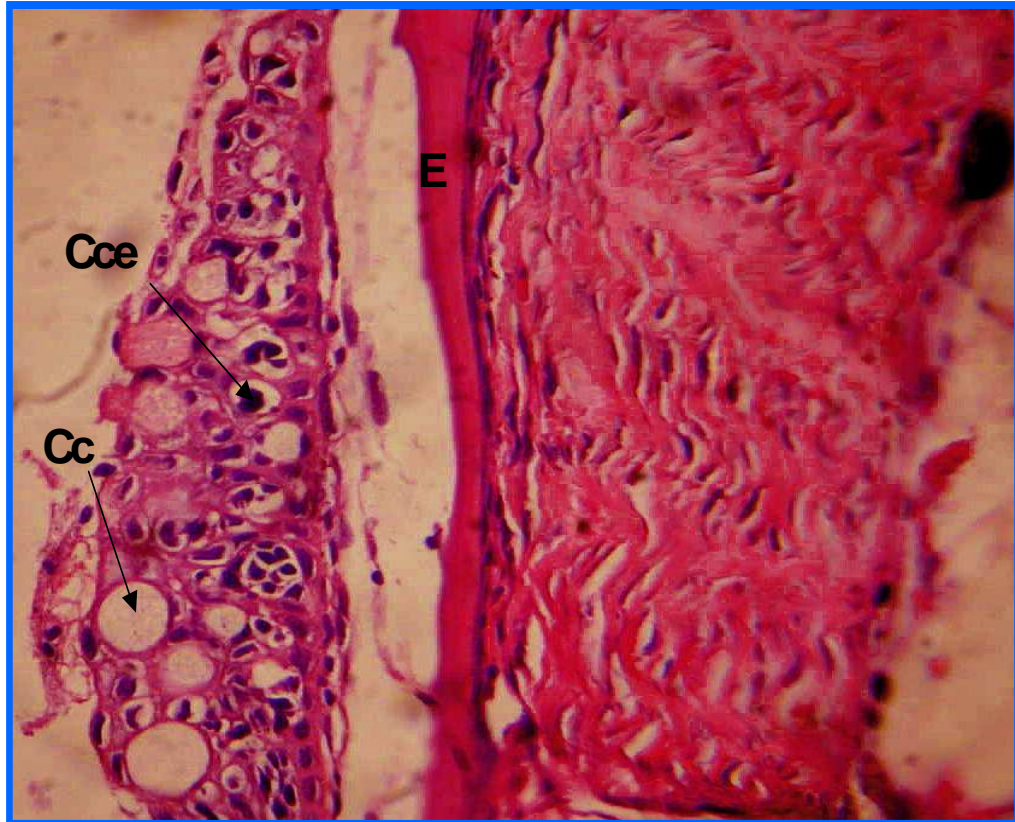
**Cc: Células caliciformes, Cce: Células cilíndricas escamosas,
E: Escama, P: Pigmento, Ees: Epitelio escamoso simpático**

Para el Tratamiento dos, (Figura 9) con una exposición de 18 mg/L, se observó un mayor aumento en las células caliciformes debido a la secreción excesiva de mucus, además se determinó hipertrofia del músculo. Eiras⁸⁰, reporta que el incremento de las células cilíndricas inclinan las escamas por la acción y disminución de queratina.

⁷⁹ CARDOSO, Edmund. Histopathology- morphological changes. Andorra: Biol, 1996. p. 778

⁸⁰ EIRAS, Janelli. Ocorrencia de egentes con potencial patogénico en peixes. Estado do Paraná: Anais. 1998. p. 697

Figura 9. Corte sagital del tejido epitelial *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento dos.

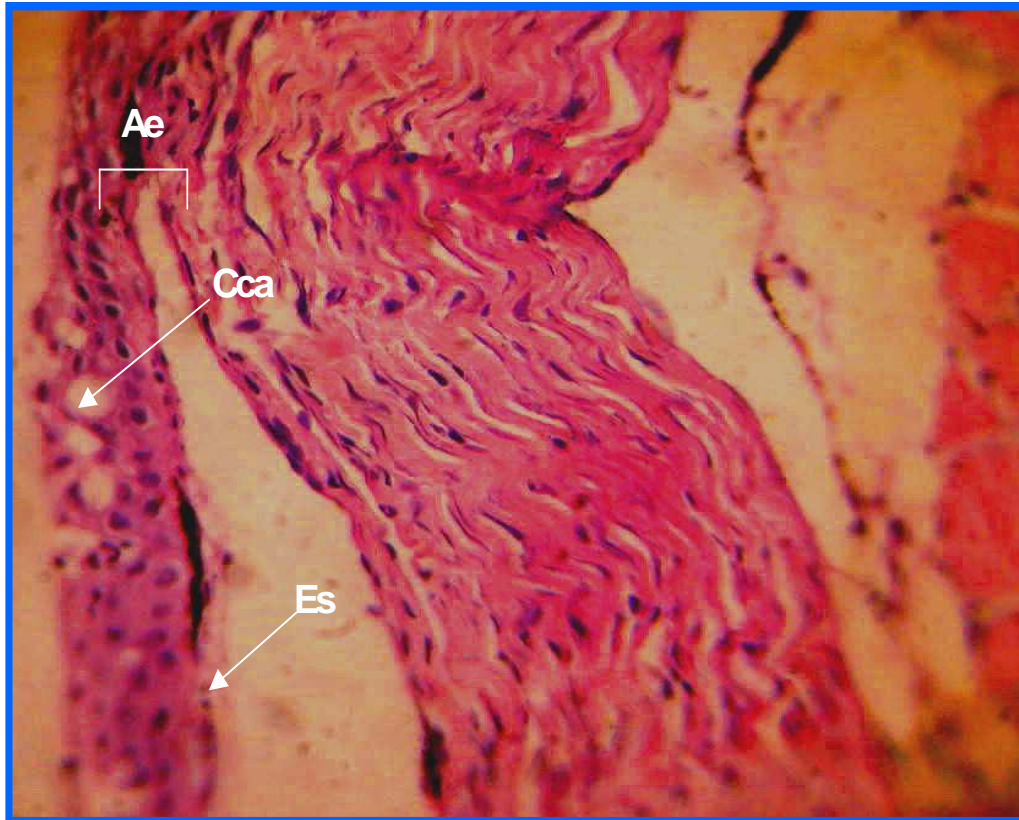


Cc: Células caliciformes, Cce: Células cilíndricas escamosas, E: Escama

La adición del insecticida a concentración de 22 mg/L, para el tratamiento tres, (Figura 10) ocasiona un menor tamaño y número de células caliciformes acompañadas con un adelgazamiento del epitelio. Se observó una hiperplasia luego de unos fenómenos de atrofia reflejada en el estroma. Lo anterior corrobora lo expuesto por Floyd⁸¹, quien afirma que las células caliciformes se encuentran ya atrofiadas luego de un aumento excesivo de estas por la segregación de mucus.

⁸¹ FLOYD, Frank. Medical management of channel catfish. Ontario: Education, 1994. p. 14

Figura 10. Corte sagital del tejido epitelial *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento tres.

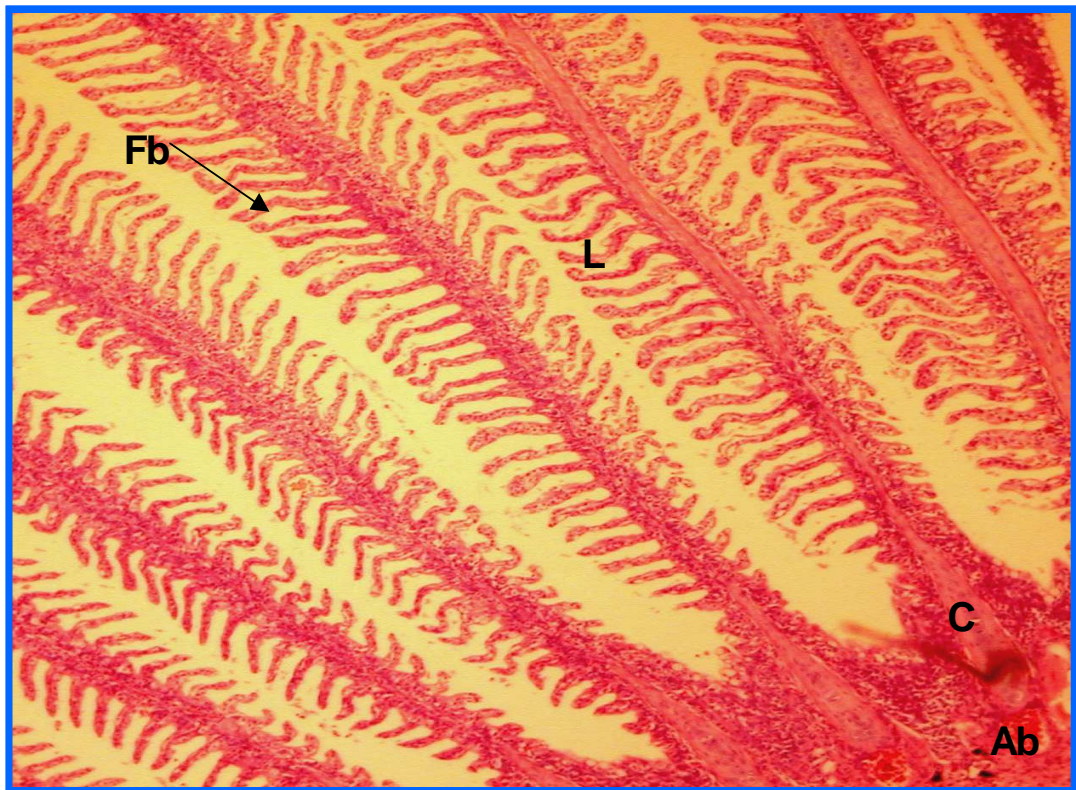


Cca: Células calciformes atrofiadas, Ae: Adelgazamiento del epitelio,
Es: Estromas.

- **Tejido branquial** En la Figura 11, se observó una estructura normal sin ninguna alteración física. Al producirse la muerte, los opérculos permanecieron abiertos tomando un color pálido y las branquias con un color rojizo oscuro, afirmando lo expuesto por Lauren⁸², quien demostró que el área bucal permanece abierta a la presencia de mucus branquial, siendo excesivo especialmente a concentraciones mayores de 18 mg/L.

⁸² LAUREN, Dan. The fish gill: A sensitive target for waterborne pollutants. Aquatic toxicology and risk assessment. Philadelphia: Mc Graw-Hill, 1991. p. 244

Figura 11. Corte sagital del tejido branquial *O. mykiss* H-E 5 μ 10x.

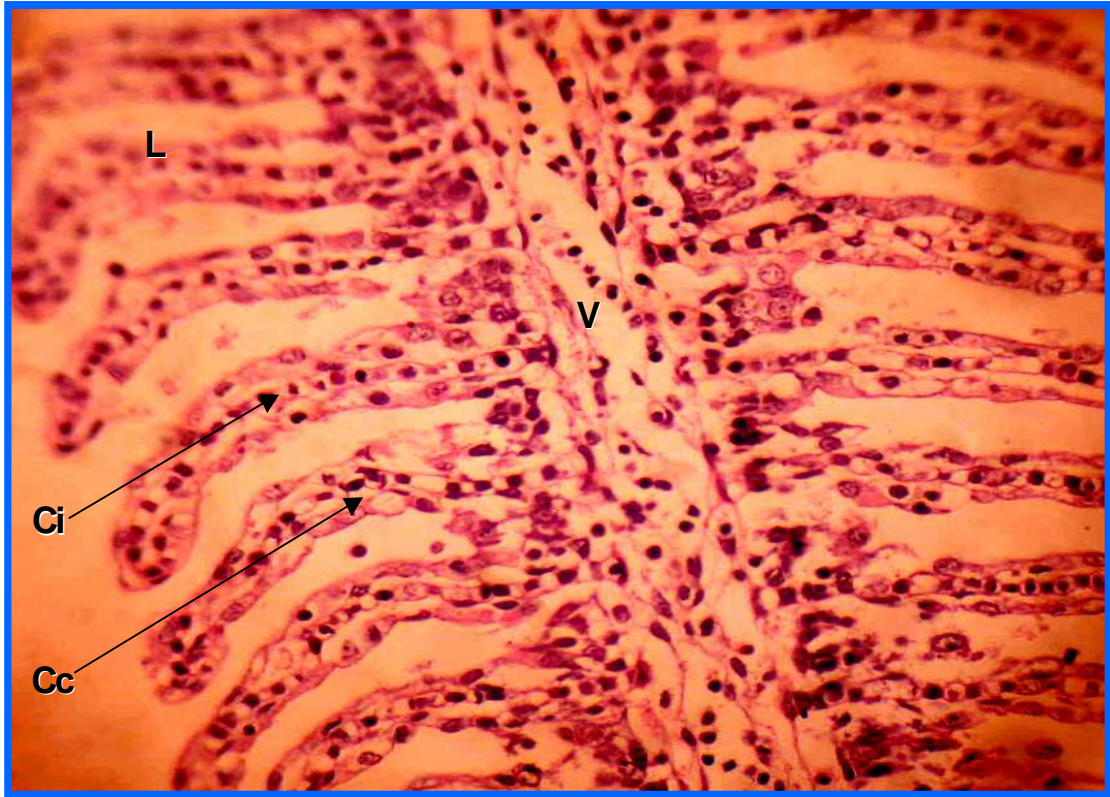


**Fb: Filamentos branquiales, L: Laminilla branquial,
Ab: Arco branquial, C: Cartilado**

Para el Tratamiento cero, (Figura 12) se observó una regularidad en las células caliciformes y no se encontró patología alguna ni cambios en el tejido. Lo anterior esta de acuerdo a lo postulado por Luna⁸³, quien señala que las lamelas y los filamentos branquiales presentan una morfología externa e interna normal sin anomalía alguna al estar expuestas a concentraciones nulas o bajas de cualquier insecticida.

⁸³ LUNA, Gonzalo. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology. Toronto: Mc Graw-Hill, 1968. p. 281

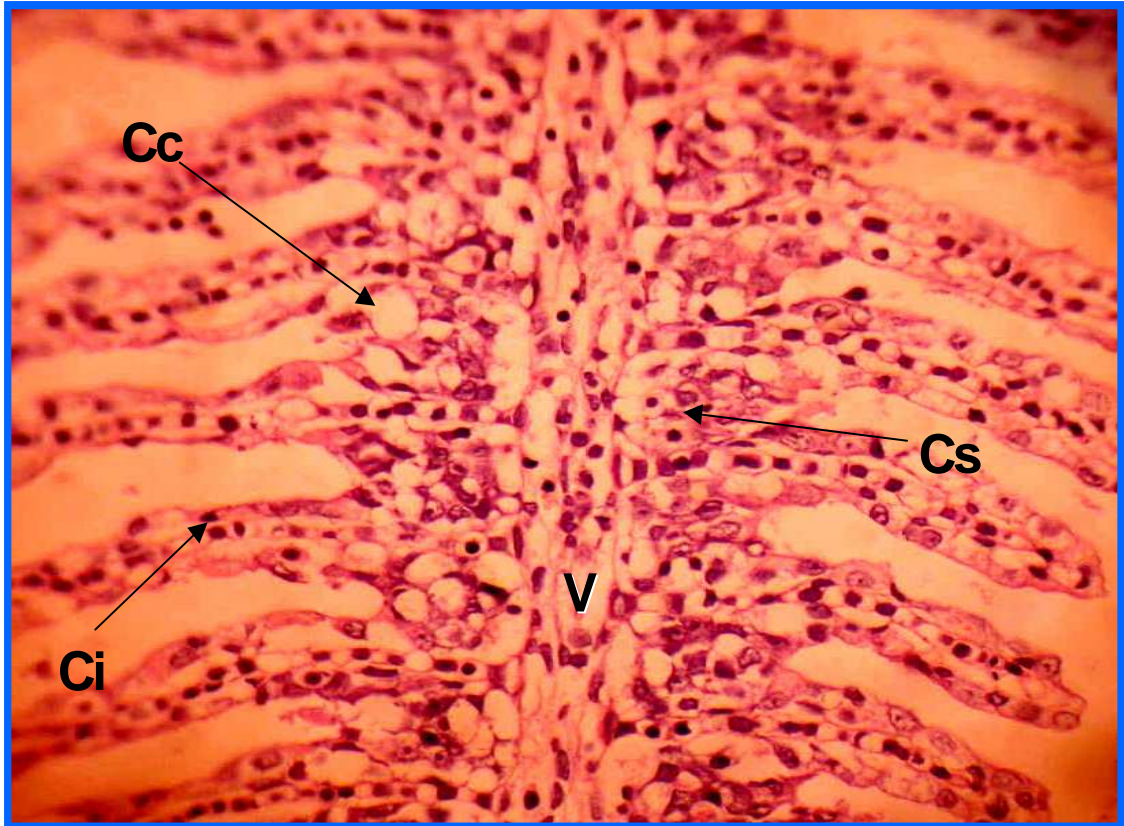
Figura 12. Corte sagital del tejido branquial *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento cero.



L: Lamelas, V: Vena, Cc: Células caliciformes, C: Células cilíndricas

Para el Tratamiento uno, (Figura 13) con 14 mg/L, se apreció un epitelio con presencia de mucus, además del incremento en el número de células caliciformes. El resto de la estructura no mostró alteraciones.

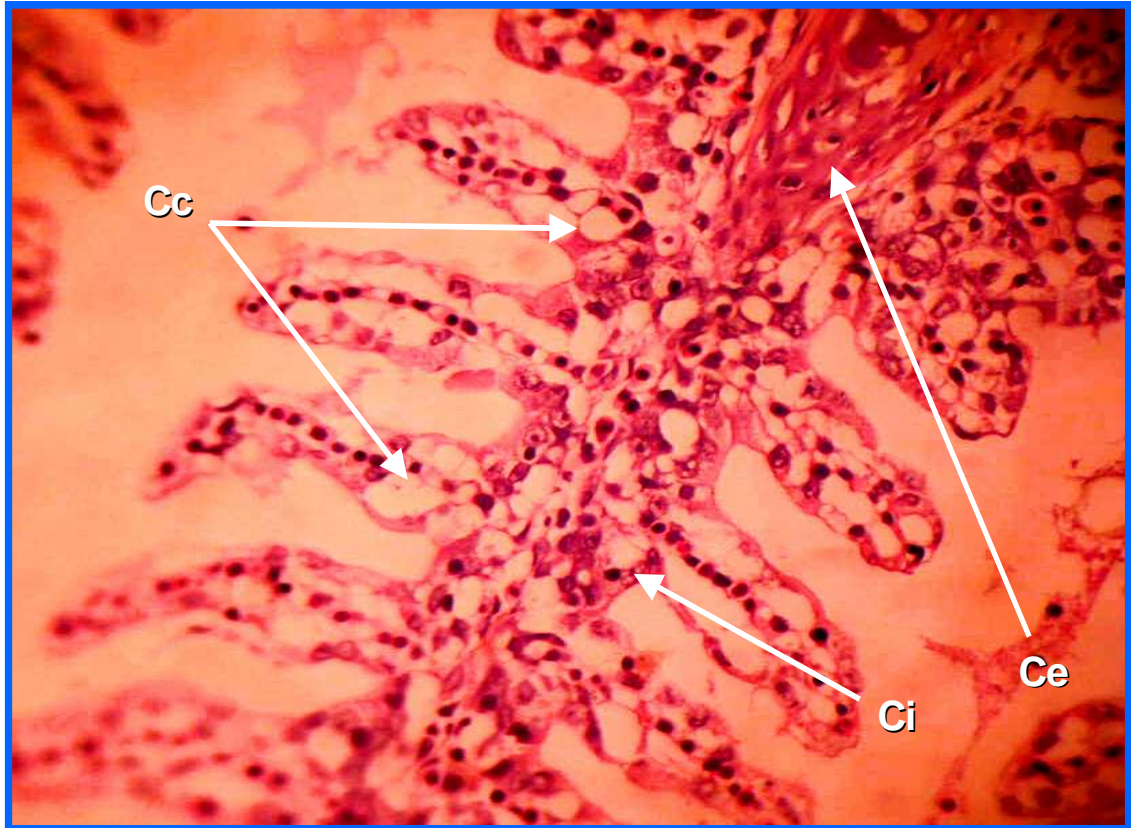
Figura 13. Corte sagital del tejido branquial *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento uno.



V: Vena, Cc: Células caliciformes Cs: Congestión sanguínea,
Ci: Células cilíndricas

Para el Tratamiento dos, (Figura 14) con 18 mg/L, se detectó un incremento de las células caliciformes y se evidenció una congestión en el estroma lo que afectó la captación del oxígeno branquial.

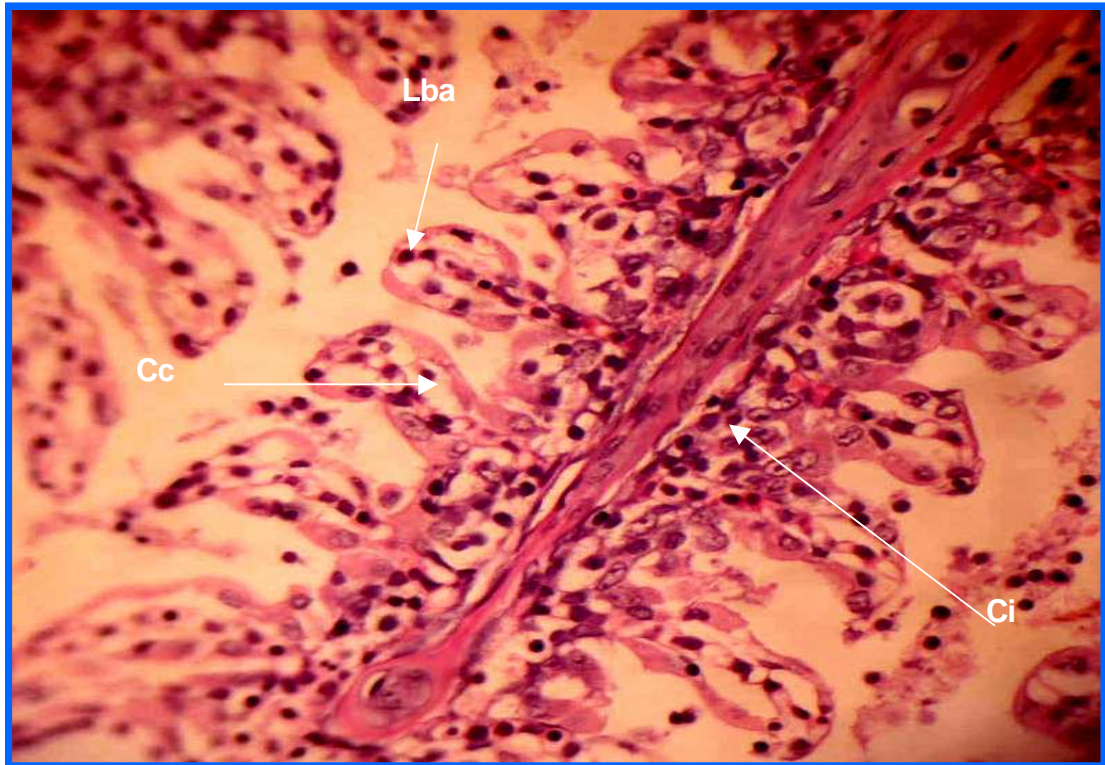
Figura 14. Corte sagital del tejido branquial *O. mykiss* H-E 5µ 40x para Tratamiento dos.



**Cc: Células caliciformes, Ce: congestión en el estroma,
Ci: Células cilíndricas**

Para el Tratamiento tres, (Figura 15) con 22 mg/L, se apreció un aumento mayor de las células caliciformes en comparación con los tratamientos anteriores, y se detectó una congestión y atrofia de las células caliciformes y cilíndricas presentes en las branquias.

Figura 15. Corte sagital del tejido branquial *O. mykiss* H-E 5µ 40x para Tratamiento tres.



Cc: Células caliciformes atrofiadas, Lba: Lamelas branquiales con atrofia, Ci: Células cilíndricas congestionadas

Domitrovic⁸⁴ reporta, que para la especie *Prochilodus scrofa*, el Carbofurán causa alteraciones histopatológicas en branquias caracterizadas con hemorragias y edemas con efectos leves en las laminillas branquiales a dosis letal media LD50 a 96 horas.

Bernabé⁸⁵ afirma, que todo carbamato que sea adicionado al agua en cualquier concentración, afecta las branquias deformando la queratina y el cartílago en la base de las laminillas branquiales, además disminuye el flujo sanguíneo en la vena principal que recorre el arco branquial. Al fluir el agua contaminada por las

⁸⁴ DOMITROVIC, Op. cit., p. 52.

⁸⁵ BERNABE., Manuel. Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Zaragoza: Louis, 1996. p. 148

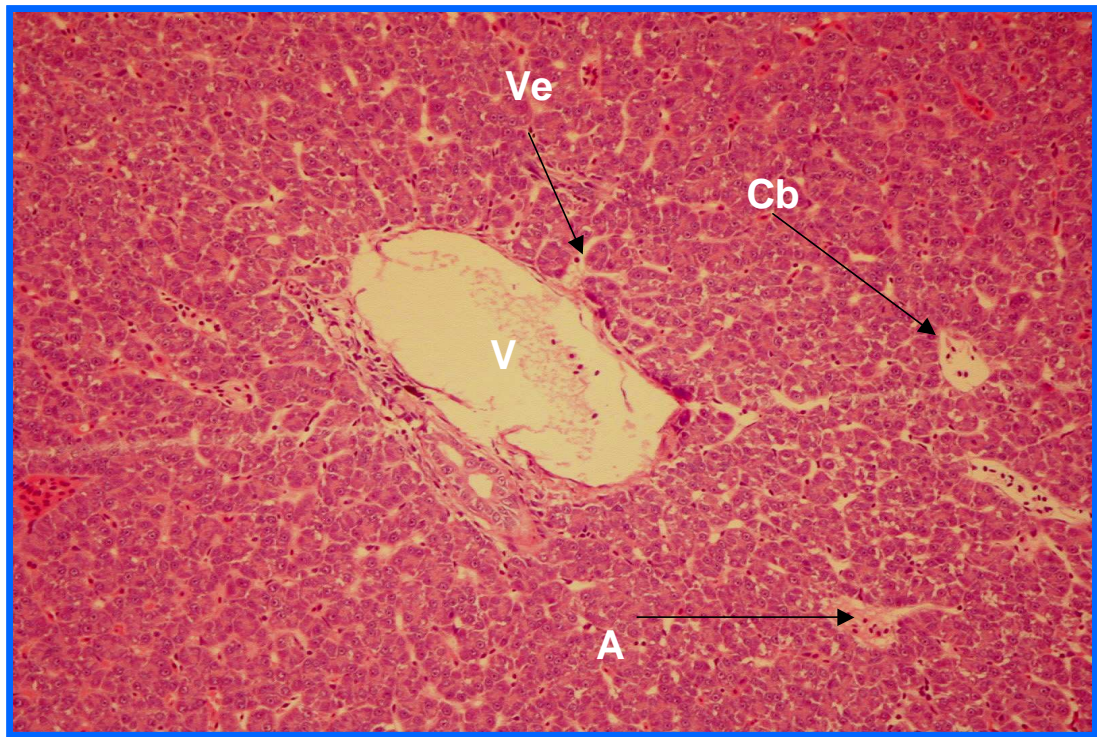
branquias, poco oxígeno se difunde en la sangre y de forma simultanea el dióxido de carbono atrofia los bazo sanguíneos y a los filamentos de las lamelas ocasionando el debilitamiento de la estructura branquial.

- **Tejido Hepático** El hígado, (Figura 16) esta conformado por diferentes conductos, venas, arterias (Tríada portal) y células que hacen parte de la entrada y salida de nutrientes.

En los diferentes tratamientos evaluados con el insecticida, se evidenció que la tríada portal, (vena de salida de sangre con nutrientes, un conducto que secreta sustancias biliares y una arteria con entrada de oxígeno) se contrae provocando un infiltrado vesicular leucocitario evitando la entrada de sangre contaminada, los sinusoides hepáticos se estrecharon haciendo que el transporte de sangre sea mas rápido, además de esto se caracteriza que las células que se encontraron dilatadas evidenciándose en su interior las vacuolas intra-citoplasmáticas con sustancias de desecho, provocando así que las células no funcionen correctamente, así como también la pérdida del núcleo.

El hígado deja de realizar su función de limpieza sanguínea y provoca la muerte del órgano. Al realizar una necropsia a los animales experimentados con Carbofurán éste mostró diferentes coloraciones según las dosis suministradas tomando un color rojo oscuro.

Figura 16. Corte sagital del tejido Hepático *O. mykiss* H-E 5μ 10x

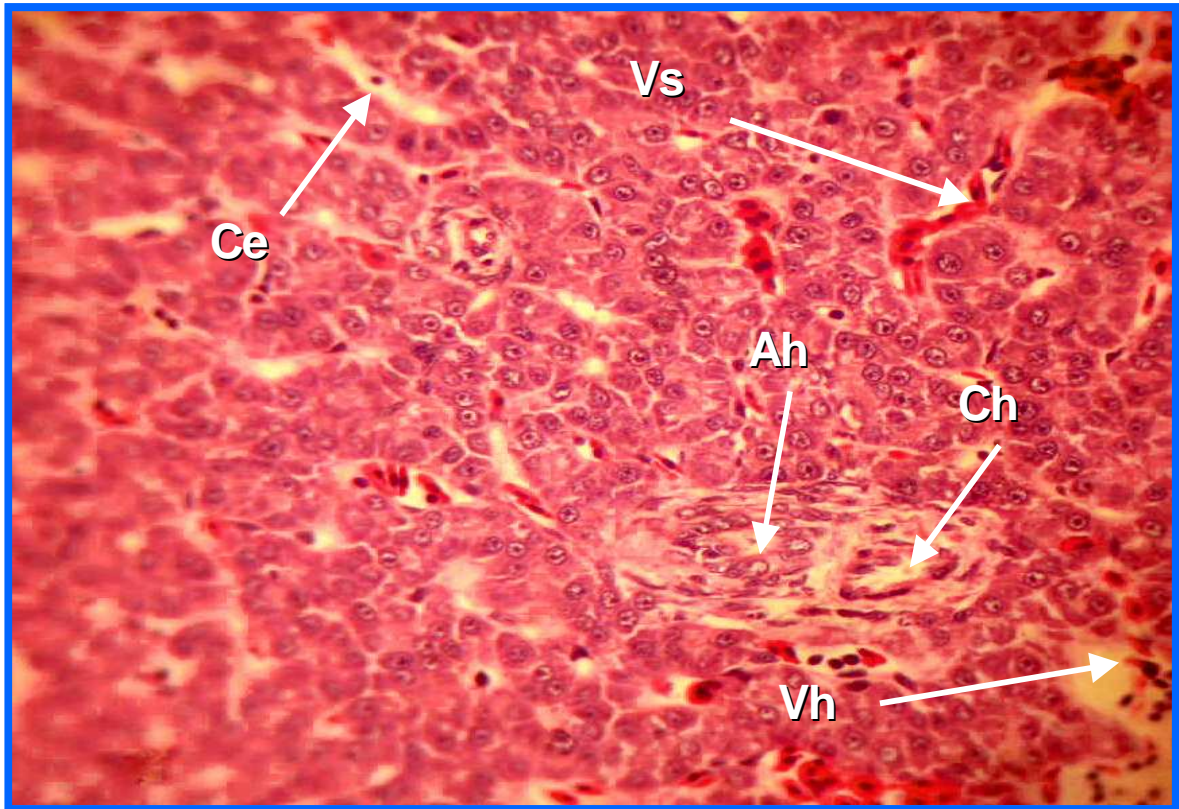


**A: Arteria, Cb: Conducto biliar. Vi: Vena (rama de la vena porta),
Ve: Bazos hepáticos**

Para el Tratamiento cero, (Figura 17) se observó una arquitectura hepática sin alteración, no se evidenciaron trastornos que afecten a la arteria ni degeneración de las paredes de los bazos sanguíneos. Los anteriores hallazgos histológicos corroboraron lo expuesto por Bernabé⁸⁶, quien afirma que en el tejido glandular del hígado se detecta la normal formación sinusoidal de los capilares diminutos (capilares por los que circula la sangre desde la vena porta y la arteria hepática y va a parar a la vena centrolobulillar o vena central).

⁸⁶ BERNABÉ. *Ibíd.*, p. 170

Figura 17. Corte sagital del tejido Hepático *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento cero.

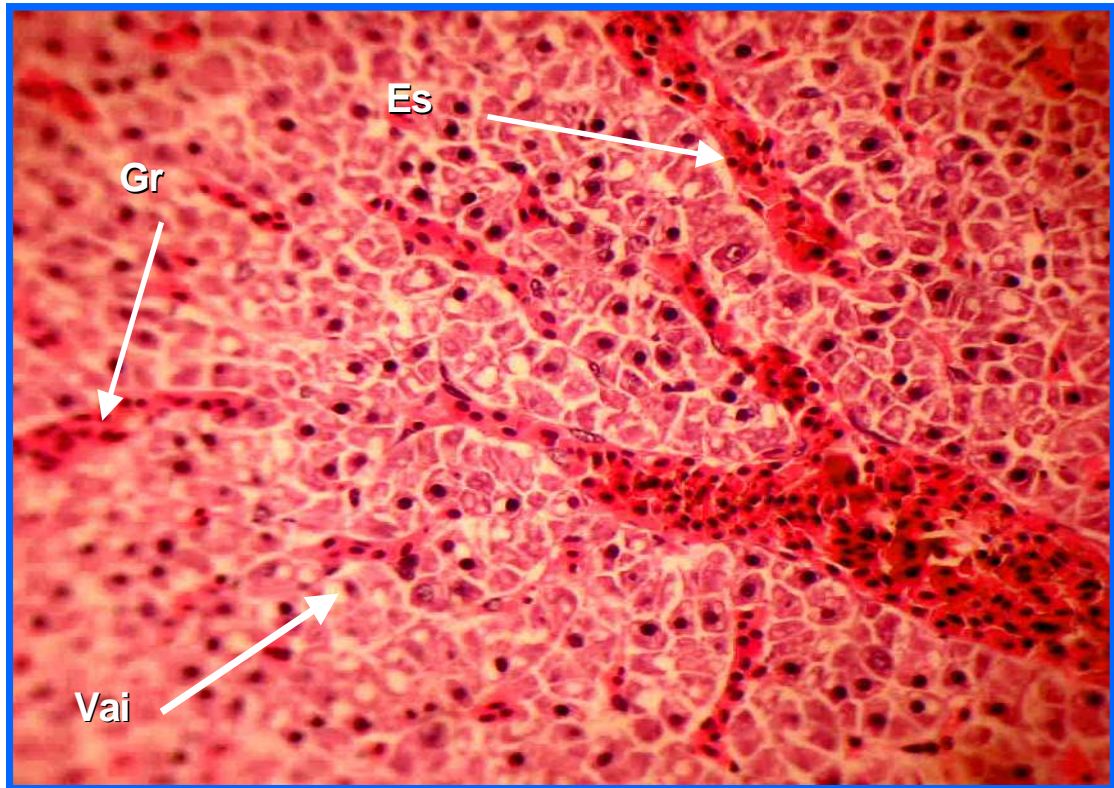


Vs: Bazos sinusoides (Glóbulos rojos), Ce: Cordones de hepatocitos, Vh: vena hepática, Ch: Conducto hepático, Ah: Arteria hepática.

Para el Tratamiento uno (Figura 18) con 14 mg/L, se observó que en algunas áreas hubo cambios vacuolares adaptativos dados por la formación de vesículas intra-citoplasmáticas de lípidos. Lo cual comparado con lo citado por Eiras⁸⁷, quien afirma que la alteración en los lobulillos o lóbulos hepáticos afectan el tejido conectivo, la atrofia de los canalículos biliares afectaron el vertimiento de bilis segregados por los hepatocitos.

⁸⁷ EIRAS, Op. cit., p. 702

Figura 18. Corte sagital del tejido Hepático *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento uno.



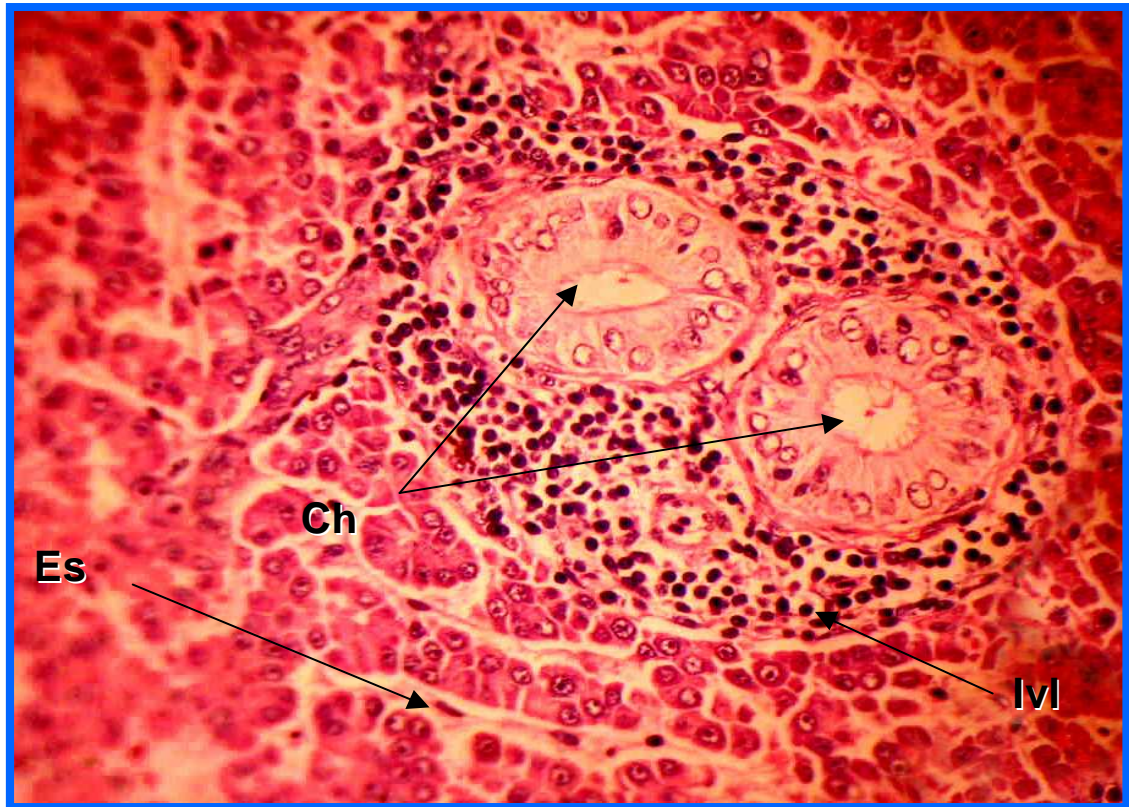
**Es: Ensanchamiento del sinusoide, Vai: Vacuola intra-citoplasmática,
Gr: glóbulos rojos**

Para el Tratamiento dos, (Figura 19) con 18 mg/L, se observó un incremento en el número de vesículas debido al trastorno circulatorio por un éxtasis venoso agudo o crónico provocando un estado de hipertensión portal, así como el tamaño de las mismas en los espacios de la tríada.

Los resultados obtenidos en esta investigación son iguales a los citados por Luna⁸⁸, quién evidenció un incremento de células inflamatorias con fenómenos degenerativos aislados, a los cuales le siguieron algunos focos de necrosis celular y congestión sinusoidal.

⁸⁸ LUNA, Op. cit., p. 282.

Figura 19. Corte sagital del tejido Hepático *O. mykiss* H-E 5 μ 40x para Tratamiento dos

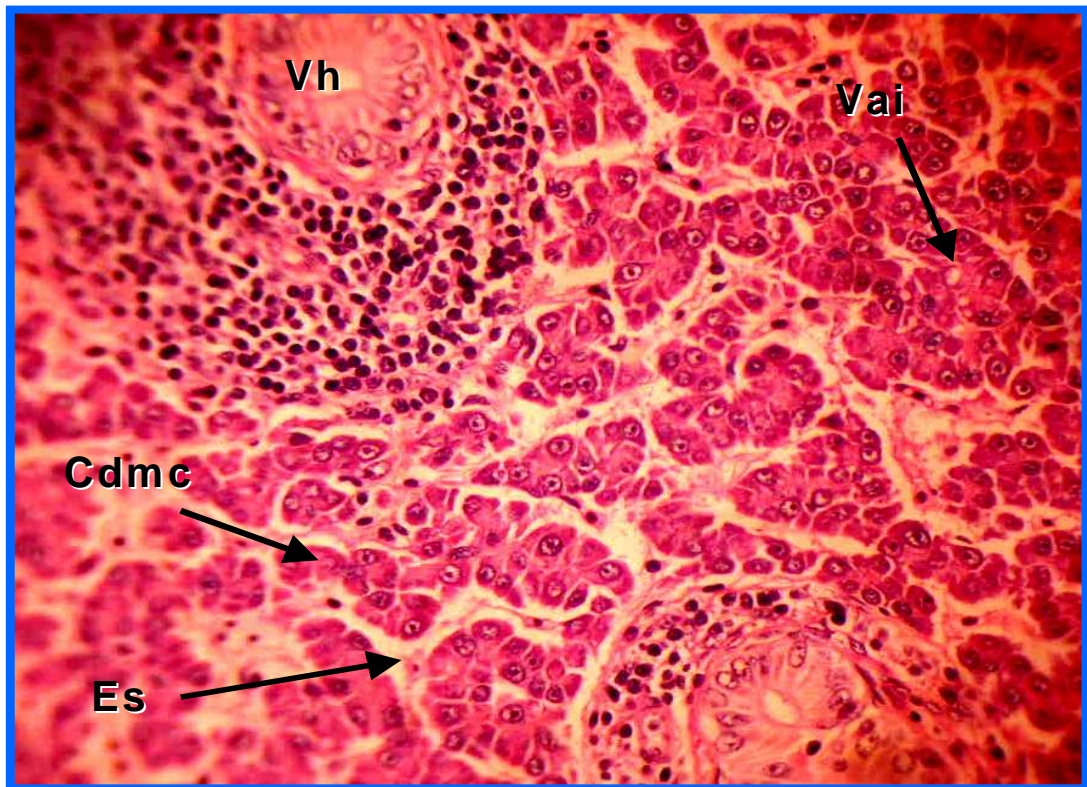


Ch: Conductos hepáticos, Ivl: Infiltrado vesicular leucocitario (inflamación crónica), En: Ensanchamiento del sinusoides

En el tratamiento tres, (Figura 20) con 22 mg/L se observó la obstrucción de los bazos sanguíneos, además se detectaron degeneraciones vacuolares del citoplasma con alteraciones baloniformes del núcleo de las células, revelando el daño en las células hepáticas. La inflamación es mas acentuada en las proximidades de los espacios portales, donde los canalículos biliares (estromas) presentan fenómenos destructivos y degenerativos, junto a unos intentos de neoformación de tejido hepático. En los espacios portales pequeños y grandes se diferenciaron infiltraciones inflamatorias constituidas por linfocitos, histiocitos y células plasmáticas.

Bernet⁸⁹, determinó unas proliferaciones de los conductos biliares provocando unas afecciones de curso crónico agresivo. Teniendo en cuenta lo anterior estas observaciones llevan en la totalidad de los casos a una insuficiencia hepática grave, caracterizada desde el punto de vista microscópico por necrosis celular y principalmente una grave alteración del plano estructural hepático.

Figura 20. Corte sagital del tejido Hepático *O. mykiss* H-E 5µ 40x para Tratamiento tres



**Cdmc: Cambios degenerativos y muerte celular (Células sin núcleo),
Vai: Vacuola intra-citoplasmática, Vh: Vena hepática, Es:
Ensanchamiento del sinusoides (glóbulos rojos).**

Schulz⁹⁰ reporta, que al trabajar en *Cyprinus carpio* con Carbofurán a concentraciones de 6,0 mg/L, se mostró una inflamación, degeneración del hígado y un aumento en los niveles de carbohidratos.

⁸⁹ BERNET, Op. cit., p. 35

⁹⁰ SCHULZ, Daniel. Proliferate endocarditic in the heart of carp after exposure to the insecticide, London: Topics, 1990. p. 74

Cossarini⁹¹ menciona, que adicionando el insecticida Carbaryl a concentración de 1,0 mg/L en carpas, en un periodo de 84 días, encontró concentraciones del producto en el hígado, en el sistema linfático y el resto del cuerpo afectando la vida de los peces.

6.3 CALIDAD DE AGUA.

Los análisis fisicoquímicos del agua son importantes en la vida íctica para su crecimiento, desarrollo, sobrevivencia y reproducción. Por ende toda investigación acuícola evalúa los parámetros fisicoquímicos más importantes según el campo de trabajo. Los cuerpos de agua son el último destino de las sustancias tóxicas liberadas al medio por actividades agrícolas e industriales. El análisis fisicoquímico sirve para evaluar el efecto que causa sobre la biota acuática y la comparación de la carga toxica que pueden soportar los animales acuáticos.

Los parámetros de calidad de agua registrados en el bioensayo (Tabla 7) (Anexo C) indican los resultados promedio en cada uno de los tratamientos determinados durante ocho réplicas a una temperatura promedio general de $14,17 \pm 0,19$. Para cada uno de los tratamientos se registraron temperaturas promedio de $14,01^{\circ}\text{C}$ para T0, para el T1 de $14,25^{\circ}\text{C}$, para el T2 de $14,17^{\circ}\text{C}$ y para el T3 de $14,25^{\circ}\text{C}$. Para este parámetro no se reportaron diferencias estadísticas significativas (Anexo L).

Tabla 7. Promedio de los parámetros fisicoquímicos entre tratamientos

| Parámetros Trts. | Amonio mg/L NH_4 | Nitritos mg/L NO_2^- | Nitratos mg/L NO_3^- | Sulfatos mg/L SO_4^{-2} | Dureza mg/L CaCO_3 | Alcalina mg/L CaCO_3 | pH Valor pH |
|---------------------|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------|
| T0 | 0,010 | 0,10 | 0,06 | 3,0 | 21,5 | 29,1 | 7,35 |
| T1 | 0,030 | 0,11 | 0,96 | 3,1 | 21,8 | 30,0 | 8,09 |
| T2 | 0,054 | 0,11 | 1,36 | 3,3 | 22,4 | 29,9 | 8,38 |
| T3 | 0,130 | 0,11 | 1,53 | 3,8 | 22,1 | 30,2 | 8,51 |
| Promedio | 0,057 | 0,10 | 0,97 | 3,34 | 21,94 | 29,77 | 8,08 |
| Desviación | 0,051 | 0,009 | 0,60 | 0,37 | 0,69 | 0,56 | 0,49 |
| Coeficiente | 90,16 | 8,64 | 61,93 | 11,32 | 3,15 | 1,89 | 6,08 |

⁹¹ COSSARINI, Nicol. Effects of oral doses of the insecticide on carp *Cyprinus carpio*. France: Guide, 1990. p. 36

6.3.1 Amonio. Se obtuvo un promedio general de $0,057 \pm 0,05$ mg/L, para el T0 de 0,01 mg/L, para el T1 de 0,03 mg/L, para el T2 de 0,05 mg/L y para el T3 de 0,13 mg/L.

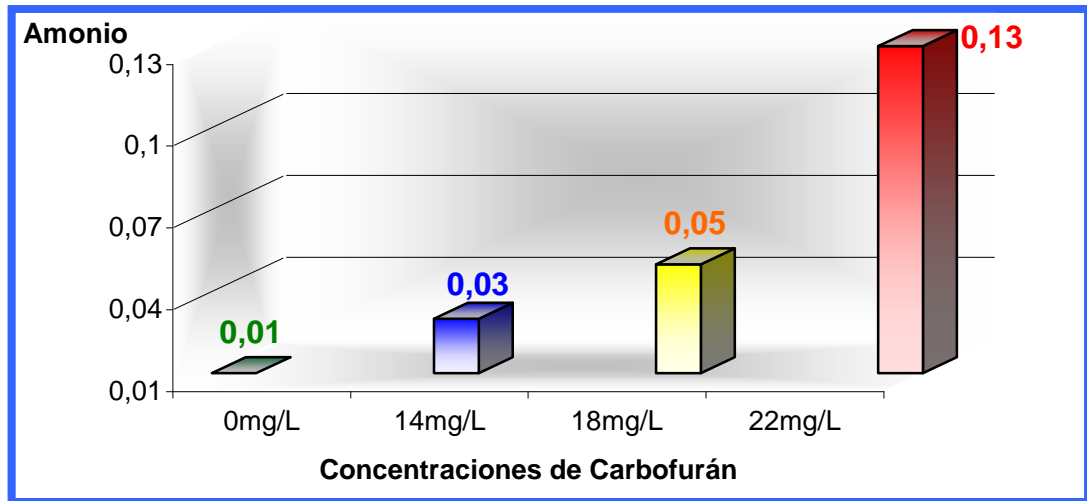
En la Tabla 7 se registra el promedio de este parámetro fisicoquímico en los diferentes tratamientos, los cuales demostraron, según el análisis de varianza existen diferencias estadísticas altamente significativas ($p \leq 0,01$) entre cada uno de ellos (Anexo E). La prueba de Tukey establece que los tratamientos 0 y 1 los cuales corresponden a las concentraciones de 0,0 mg/L y 14 mg/L de Carbofurán, demuestran un promedio menor en el ion amonio debido a la alta polaridad de la molécula de amonio, éste forma iones complejos con iones metálicos por medio de un par de electrones sin compartir sobre el nitrógeno o por atracciones ion-dipolo.

El comportamiento del incremento de las concentraciones de amonio en el agua (Figura 21), permite observar en qué tratamiento se obtienen los menores promedios de amonio y en qué tratamiento son mayores, según este estudio los menores promedios se encuentran en T1 y T2 debido que a mayor concentración de carbamato hay mayor concentración de amonio. Los cuatro tratamientos evaluados con Carbofurán, presentaron resultados superiores a los reportados por Ghittino, de 0,01-0,015 mg/L rangos normales para trucha arco iris, al cambiar el funcionamiento fisiológico de la especie, se estimula la producción de urea gracias a la reacción química se genera amoniaco, el cual es el responsable de aumentar el valor del pH en el sistema.

Sin embargo los valores obtenidos en este estudio fueron menores a los obtenidos por Aenor⁹² quien reporta valores entre 0,010 - 0,07 mg/L en concentraciones de 15 a 24 mg/L de carbarilo a DL50 - 96 horas, esto puede deberse a que la concentración manejada es alta y el producto utilizado puede tener una composición mayor en sus componentes.

⁹²AENOR, Ronald. Determinación de la inhibición de la movilidad de *Brachydanio rerio*. Ensayo de toxicidad aguda con carbamato. México: Panamericana, 1996. p. 17

Figura 21. Concentración de Amonio en el agua

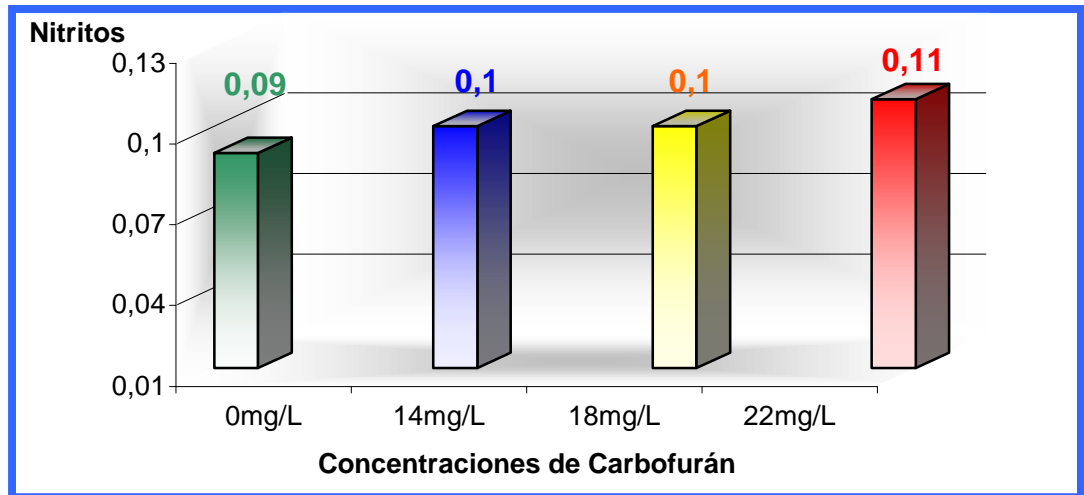


6.3.2 Nitritos. Se obtuvo un promedio general de $0,10 \pm 0,009$ mg/L, para el T0 de 0,09 mg/L, para el T1 de 0,10 mg/L, para el T2 de 0,10 mg/L y para el T3 de 0,11 mg/L.

En la Tabla 7 se registran los promedios de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos, los cuales demostraron según el análisis de varianza que existen diferencias estadísticas altamente significativas entre cada uno de ellos (Anexo F), de acuerdo con la prueba de Tukey, establece que los tratamientos 0 y 1 los cuales corresponden a las concentraciones de 0,0 mg/L y 14 mg/L de Carbofurán, demuestran un menor promedio, debido a que por la oxidación o descomposición del amoniaco se forman los nitritos afectando los niveles de toxicidad, perjudicando la salud de los peces.

El comportamiento de las concentraciones de nitritos en el agua (Figura 22), permite observar que en los cuatro tratamientos se presentan promedios estables. Según este estudio los menores promedios se encuentran en T0, T1 y T2 debido que a mayor concentración de carbamato hay mayor concentración de nitritos, los cuales se forman por proceso de oxigenación, cuando hay presencia de nitrógeno en otros procesos químicos como el amoniaco y la urea. Los cuatro tratamientos evaluados con Carbofurán, presentaron resultados similares de los reportados por Ghittino, de 0,0 mg/L a 0,1 mg/L rangos normales para Trucha Arco Iris.

Figura 22. Concentración de Nitritos en el agua



Hunn⁹³ reporta, que al trabajar con Carbofurán encontró valores de 0,1 - 3,0 mg/L a concentraciones de 30 mg/L, obteniendo valores mayores debido a la urea secretada por los peces y a mayores cantidades de carbamato.

6.3.3 Nitratos. Se obtuvo un promedio general de $0,97 \pm 0,60$ mg/L, para el T0 de 0,05 mg/L, para el T1 de 0,96 mg/L, para el T2 de 0,36 mg/L y para el T3 de 0,52 mg/L.

En la Tabla 7 se registra los promedios de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos; durante el bioensayo el incremento de nitratos obtenidos en los diferentes tratamientos demostraron según el análisis de varianza que existen diferencias estadísticas altamente significativas entre cada uno de ellos (Anexo G), estableciendo que los tratamientos 0 y 1 los cuales corresponden a las concentraciones de 0,0 mg/L y 14 mg/L de Carbofurán, presentan un ascenso de nitratos a medida que se elevo el ciclo del nitrógeno, comprobando la transformación de los nitritos en nitratos afectada por la oxidación.

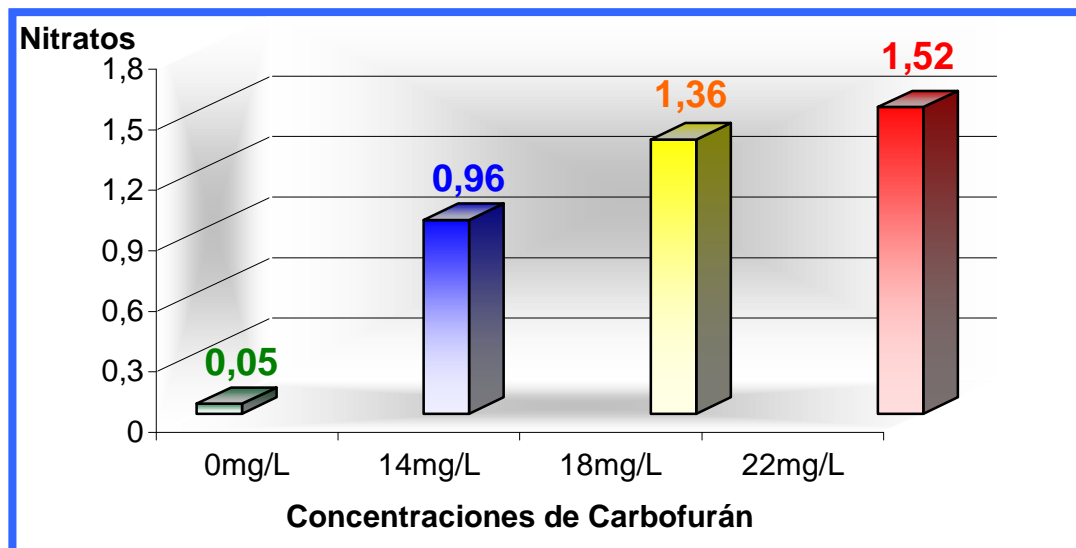
El comportamiento de las concentraciones de Nitrato en el agua (Figura 23), permite observar que en los cuatro tratamientos se presentan promedios en forma ascendente. Según este trabajo los menores promedios se encuentran en T0 y T1

⁹³ HUNN, John. History of acute toxicity test with fish. Investigations in Fish Control. London: Rdsch, 1989. p. 10

debido que a mayor transformación de nitritos hay mayor transformación de nitratos. Los cuatro tratamientos evaluados con Carbofurán, presentaron resultados menores a los reportados por Ghittino, de 0 a 10 mg/L rangos normales para trucha arco iris.

Así mismo Hellowell⁹⁴ reporta, valores que se encuentran entre 2,5 - 5,0 mg/L. finalizando en una mortalidad del 100%. Igualmente Kosinski⁹⁵ cita valores que oscilan en los 7,0 - 8,5 mg/L. Estos valores demuestran que los niveles de nitratos se deben tratar de mantener al mínimo, ya que los peces son más susceptibles de contraer enfermedades y disminuyen su metabolismo.

Figura 23. Concentración de Nitratos en el agua



6.3.4 Sulfatos. Se obtuvo un promedio general de $3,34 \pm 0,37$ mg/L, para el T0 de 3,1 mg/L, para el T1 de 3,13 mg/L, para el T2 de 3,32 mg/L y para el T3 de 3,9 mg/L.

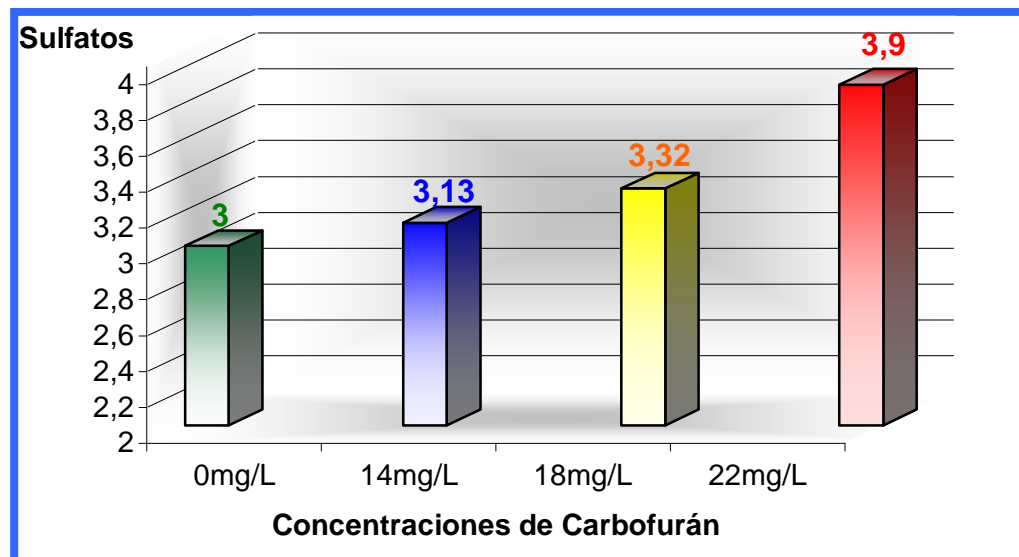
⁹⁴ HELLAWELL, Jack. Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. London: Elsevier, 1989. p. 546

⁹⁵ KOSINSKI, Jymm. 1984. The destination and effects of the insecticide in flow-to inclination of the discharge of agricultural drainage in the fish. Oxford: Dordrecht, 1989. p. 165

En la Tabla 7 se muestra los promedios de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos; durante el bioensayo el incremento de sulfatos obtenidos en los diferentes tratamientos señalaron según el análisis de varianza que existen diferencias estadísticas altamente significativas entre cada uno de ellos (Anexo H), según la prueba de Tukey al 95% de confianza establece que los tratamientos 0 y 1 los cuales corresponden a las concentraciones de 0,0 mg/L y 14 mg/L de Carbofurán, muestran una elevación del sulfato a medida que se elevo la concentración de sales convirtiéndose en sulfatos.

El comportamiento de las concentraciones de Sulfato en el agua (Figura 24), permitieron observar que en los cuatro tratamientos se presentaron promedios en forma ascendente. Según esta investigación, se observó que los promedios menores se encuentran en T0 y T1 debido a que los compuestos sulfatados se originan a partir de la oxidación del sulfato y la existencia de residuos orgánicos. Los cuatro tratamientos evaluados con Carbofurán, presentaron resultados menores a los reportados por Ghittino, entre 0,0 mg/L a 18 mg/L rangos normales para trucha arco iris.

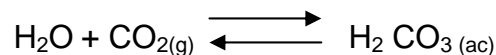
Figura 24. Concentración de Sulfatos en el agua



6.3.5 Dureza. Se obtuvo un promedio general de $21,94 \pm 0,69$ mg/L, para el T0 de 21,5 mg/L, para el T1 de 21,8 mg/L, para el T2 de 22,35 mg/L y para el T3 de 22,11 mg/L.

En la Tabla 7 se registran los promedios de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos; durante el bioensayo el incremento de dureza obtenida en los diferentes tratamientos demostraron según el análisis de varianza que existen diferencias estadísticas no significativa (Anexo I), según la prueba de Tukey se establece que los tratamientos 0 y 1 los cuales corresponden a las concentraciones de 0,0 mg/L y 14 mg/L de Carbofurán, demuestra una elevación de la dureza a medida que se elevo la concentración de sales minerales principalmente, calcio y en menor medida magnesio disueltas en el agua por la desnaturalización de células, las cuales internamente contienen nutrientes como el Ca^{2+} .

El comportamiento de las concentraciones de dureza en el agua (Figura 25), permite observar que en los cuatro tratamientos presentan promedios en forma ascendente. Según este trabajo los menores promedios se encuentran en T0 y T1 por consiguiente esta puede ser afectada por la *reacción de ácido carbónico* con carbonatos de calcio y magnesio para generar bicarbonatos, estos bicarbonatos servirán como una reserva de dióxido de carbono en el agua y ayudarán a formar CO_2 y estabilizar el pH.



Las sales de carbamato $\text{CaCO}_3 \rightleftharpoons \text{Ca}^{2+} + \text{CO}_3^{2-}$ son más solubles en medio acuoso el cual se forma por medio de H_2CO_3 , provocando un incremento en Ca^{2+} y Mg^{+2} que son los responsables de la dureza.

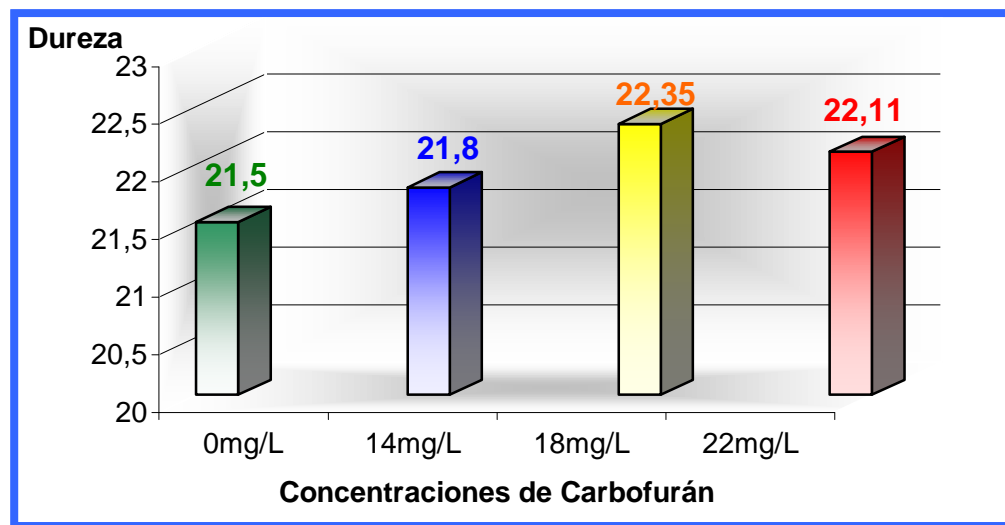
Los cuatro tratamientos evaluados con Carbofurán, presentaron resultados menores a los reportados por Ghittino, de 70 - 300 mg/L rangos normales para Trucha Arco Iris.

Los valores obtenidos para este estudio son inferiores a los reportados Fairchild⁹⁶ el cual manifiesta una dureza de 40 - 55 mg/L trabajados con Carbamil en *Salmo Trutta* a concentraciones de 20 - 25 mg/L debido a la cantidad de carbonatos que

⁹⁶ FAIRCHILD, Franklin. Effects of an herbicide and insecticide mixture in aquatic. New York: Arch, 1994. p. 533

tenga el agua procedentes del producto, bien de Calcio, Magnesio, Sodio o de cualquier otro metal mono, bivalente o polifuncional.

Figura 25. Concentración de Dureza en el agua



6.3.6 Alcalinidad y pH. Se obtuvo un promedio general de $29,77 \pm 0,56$ para Alcalinidad y $8,08 \pm 0,49$ mg/L para pH, para el T0 de 7,34 mg/L, para el T1 de 8,09 mg/L, para el T2 de 8,38 mg/L y para el T3 de 8,51 mg/L.

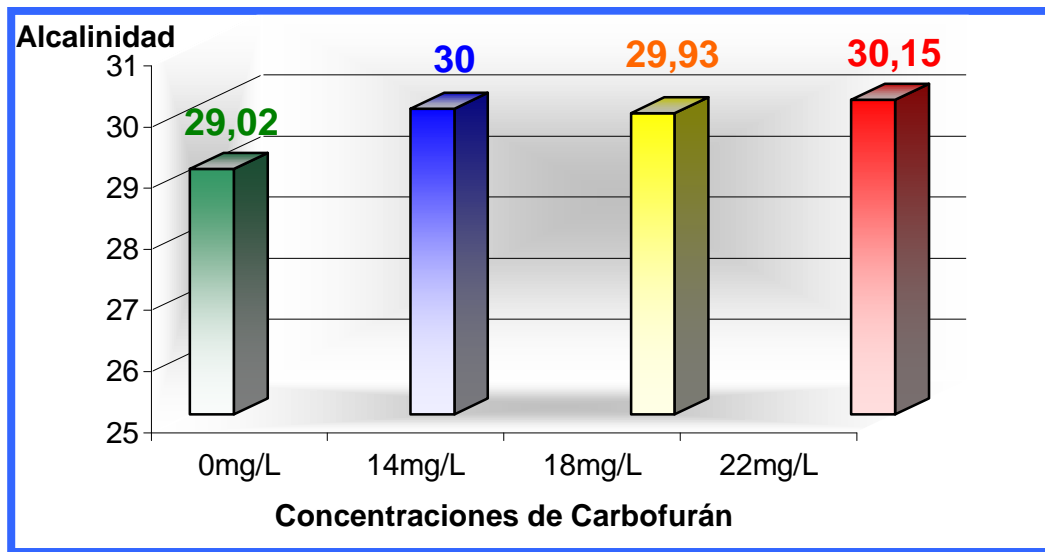
En la Tabla 7 se registra los promedios de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos; durante el bioensayo el incremento de alcalinidad obtenido en los diferentes tratamientos demostraron según el análisis de varianza que existen diferencias estadísticas altamente significativas entre cada uno de ellos (Anexo J y K), según la prueba de Tukey, establece que los tratamientos 0 y 1 presentan menores valores en su promedio, los cuales corresponden a las concentraciones de 0,0 mg/L y 14 mg/L de Carbofurán, lo cual demuestra una disminución de la cantidad de iones de hidrógeno (H^+) y encontrando un aumento en los iones de hidróxido (OH^-), en los diversos químicos y minerales disueltos en el agua modificando el balance de estos iones, al aumentar los iones de hidrógeno baja el pH (agua ácida) y al aumentar los iones de hidróxido sube el pH (agua alcalina).

El comportamiento de las concentraciones de alcalinidad y pH en el agua (Figura 26 y 27), permiten observar que en los cuatro tratamientos presentan promedios en forma ascendente. Según esta investigación, se determinó que los promedios

menores se encuentran en T0 y T1 debido a que los compuestos de hidrogeno con las sales de calcio encontradas en el producto, subiendo el pH. Los cuatro tratamientos evaluados con Carbofurán, presentaron resultados menores a los reportados por Ghittino, de 8- 60 mg/L para alcalinidad y 6,8 – 8,0 mg/L para pH, rangos normales para trucha arco iris.

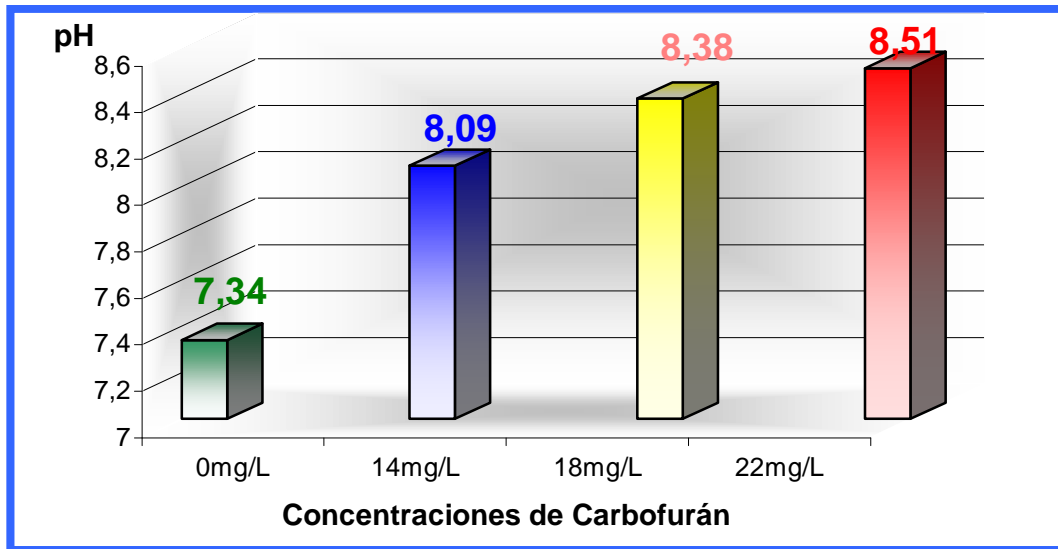
Los resultados de este trabajo presentan un rango similar a los descritos por Fairchild⁹⁷, quien reporta valores de alcalinidad de 25 - 30 mg/L y de pH con 7,5- 8,9, al trabajar con Carbamatos en Antarctic plunderfish con concentraciones de 22 a 30 mg/L, esto se debe a pequeñas variaciones con el tiempo, incluso a lo largo del bioensayo, siendo afectado por procesos biológicos naturales que se realizan dentro del agua.

Figura 26. Concentración de Alcalinidad en el agua



⁹⁷ FAIRCHILD, Franklin. Op. cit., p. 534

Figura 27. Concentración de pH en el agua



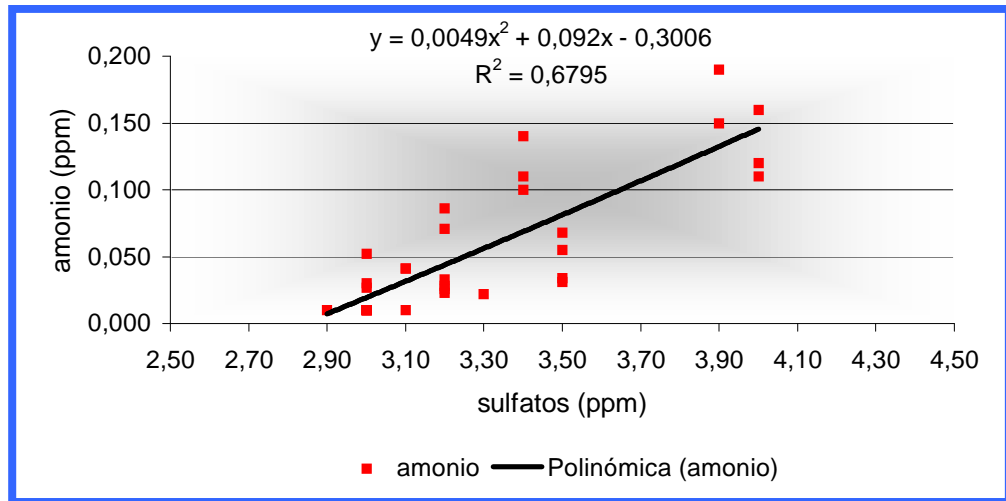
6.3.7 Relación entre Variables

Sulfatos y Amonio. Al realizar la prueba de correlación múltiple y se encontró un coeficiente de correlación de 0,8243 lo que indica que existe un grado medio de asociación entre estas dos variables (Anexo D).

Al efectuar el análisis de regresión se encontró un R^2 igual a 0,6795 en un modelo de regresión polinómica $Y = 0,0049 X^2 + 0,092X - 0,3006$, lo que indica que este modelo representa esta relación de dependencia entre sulfatos y amonio en un 67,95% y el resto se debe a otros factores desconocidos que podrían enunciarse como, restos de alimento, detritos de los peces y el proceso metabólico natural de los peces al ser excretada a través de las branquias. Por lo tanto por cada unidad que varíe la cantidad de sulfatos, el amonio variará en la cantidad que resulte de la anterior ecuación (Figura 28),

Estos resultados se presentan debido a la existencia de los procesos de degradación de materia orgánica, como también debido al azufre presente en las mismas moléculas de origen biológico que con presencia del oxígeno llega a su estado máximo de oxidación formando sulfatos. Estos procesos aumentan los factores de estrés, estimulando los peces a la excreción responsable al aumento de amonio.

Figura 28. Curva de regresión entre sulfato con respecto al amonio



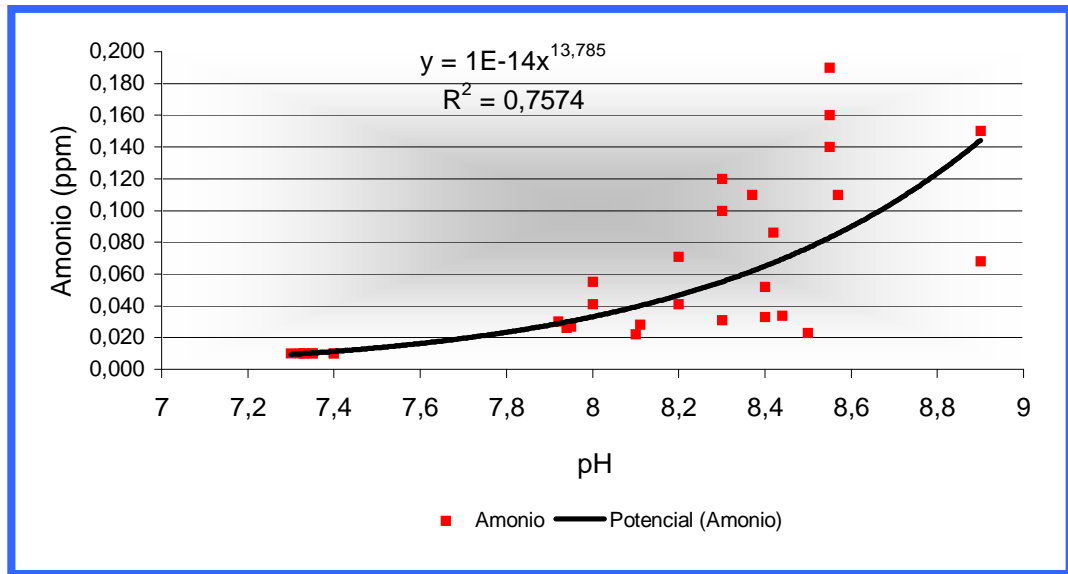
pH y Amonio. Así mismo se encontró una correlación de 0,7123 entre pH y amonio, lo que indica que existe un grado medio de asociación entre estas dos variables (Anexo D).

Al efectuar el análisis de regresión se encontró un R^2 igual a 0,7574 en un modelo de regresión potencial $Y = 1E - 14X^{13,785}$ lo que indica que este modelo representa esta relación de dependencia entre pH y amonio en un 75,74% y el resto se debe a otros factores desconocidos que podrían enunciarse como sulfatos, nitritos y alcalinidad. El pH sufre pequeñas variaciones con el tiempo, incluso a lo largo del día, baja durante la noche y sube durante el día, siendo afectado también por cambios en los procesos biológicos naturales que se realizan dentro del agua. Por lo tanto por cada unidad que varíe la cantidad de pH, el amonio variará en la cantidad que resulte de esta ecuación (Figura 29).

El amonio es una especie química dependiente de los procesos metabólicos y fisiológicos del pez, al incrementarse el pH por encima de los valores óptimos de la especie se alteran estos procesos y generan un incremento en el amoniaco, por posesos de excreción y desnaturalización del tejido epitelial y branquial, este fenómeno predomina sobre el poseso químico característico del ión amonio que hace disminuir el pH el cual actúa como un ácido muy débil. $K_a = 10^{-14} / 1.8 \times 10^{-5}$
 $K_a = 5.5 \times 10^{-10}$



Figura 29. Curva de regresión entre pH con respecto al amonio



Nitratos y Nitritos. Al realizar la prueba de correlación múltiple se encontró un coeficiente de correlación de 0,7981 con los nitratos lo que indica que existe un grado medio de asociación entre estas dos variables (Anexo D).

Al efectuar el análisis de regresión se encontró un R^2 igual a 0,6547 en un modelo de regresión polinómica $Y = 0,0037X^2 + 0,0059X + 0,0951$ lo que indica que este modelo representa esta relación de dependencia entre nitratos y nitritos en un 65,47% y el resto se debe a otros factores desconocidos que podrían enunciarse como la alcalinidad, además se ve afectado por la no realización de recambio parcial de agua y la descomposición de alimento y heces fecales. Por lo tanto por cada unidad que varíe la cantidad de nitratos, los nitritos variarán en la cantidad que resulte de esta ecuación (Figura 30).

Dando a conocer que en un sistema donde se presenta mayor cantidad de amonio y este en presencia de oxígeno, se transforma inicialmente en nitritos y en otra etapa llegara a transformarse en nitratos.

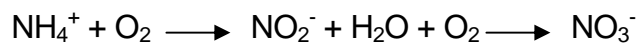
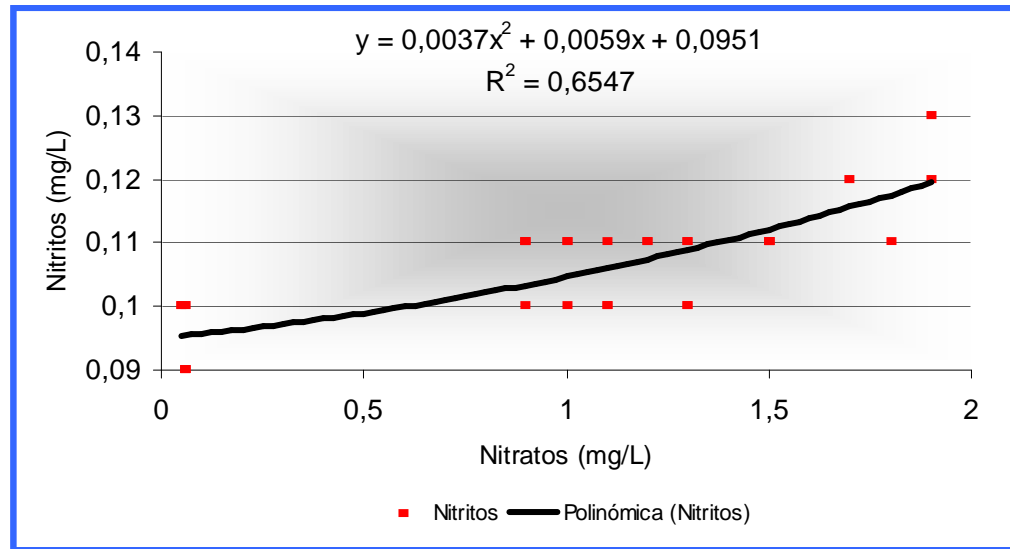


Figura 30. Curva de regresión entre Nitratos con respecto a los Nitritos

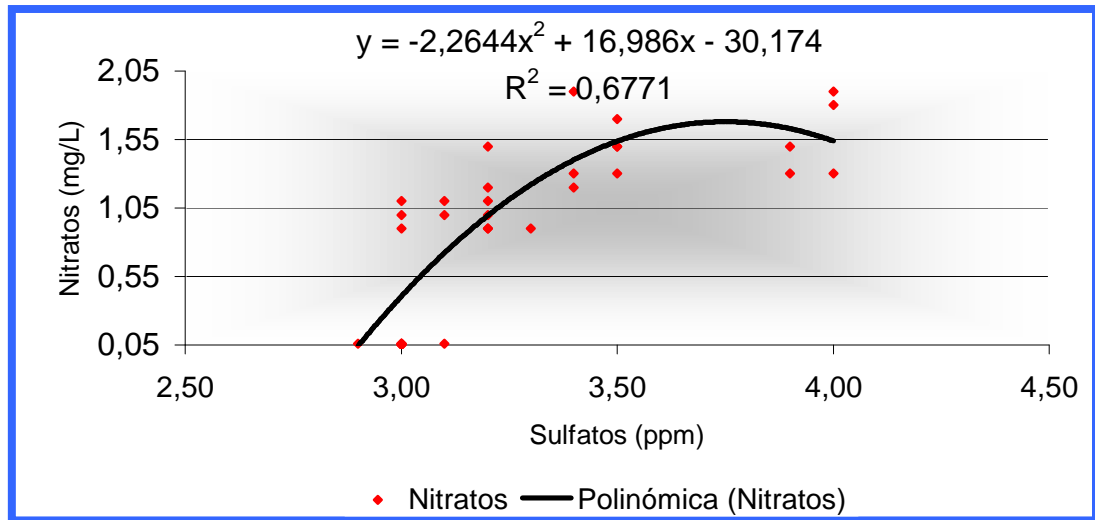


Sulfatos y Nitratos. Al realizar la prueba de correlación múltiple se encontró un coeficiente de correlación de 0,7275 con los sulfatos lo que indica que existe un grado medio de asociación entre estas dos variables (Anexo D).

Al efectuar el análisis de regresión se encontró un R^2 igual a 0,6771 en un modelo de regresión polinómica $Y = -2,2644X^2 + 16,986X - 30,17$ a lo que indica que este modelo representa esta relación de dependencia entre sulfatos y nitratos en un 67,71% y el resto se debe a otros factores desconocidos que podrían enunciarse como nitritos, alcalinidad y amonio, además al aumentar los nitratos se genera en los peces un shock, causando enfermedades como también la muerte. Por lo tanto por cada unidad que varíe la cantidad de sulfatos, el nitrato variará en la cantidad que resulte de esta ecuación. (Figuras 31).

Al conocer la correlación de amonio sulfatos se determina que es directa ya que el amonio es un precursor de los nitritos, esta correlación rectifica que el amonio por procesos de oxidación se transforma en nitratos

Figura 31. Curva de regresión entre Sulfatos con respecto a los Nitratos

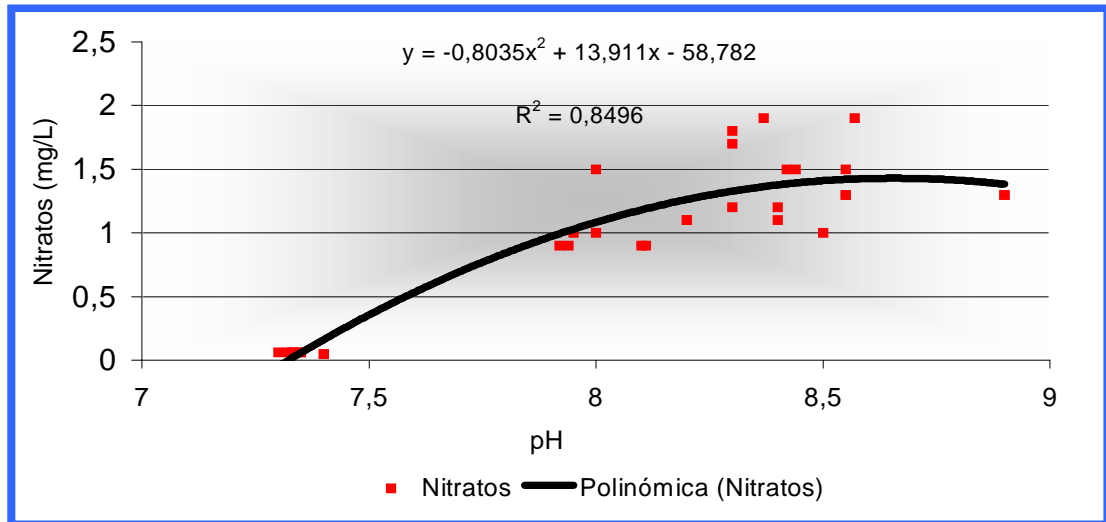


pH y Nitratos. Así mismo se encontró una correlación del 0,8735 con los nitratos lo que indica que existe un grado medio de asociación entre estas dos variables (Anexo D).

Al efectuar el análisis de regresión se encontró un R^2 es igual a 0,8496 en un modelo de regresión polinómica $Y = -0,8035X^2 + 13,911X - 58,782$ lo que indica que este modelo representa esta relación de dependencia entre pH y nitratos en un 84,96% y el resto se debe a otros factores desconocidos que podrían enunciarse como sulfatos, nitritos, alcalinidad y amonio. Por lo tanto por cada unidad que varíe la cantidad de pH, los nitratos variarán en la cantidad que resulte de esta ecuación (Figura 32).

Al observar la correlación se deduce que la formulación de nitritos se revela en una etapa intermedia rápida.

Figura 32. Curva de regresión entre pH con respecto a los Nitratos



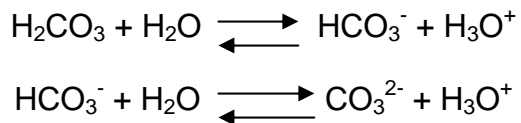
Sulfatos. Al realizar la prueba de correlación múltiple no se encontró relación con los demás parámetros (Anexo D). Los valores de sulfatos aumentan de acuerdo a la cantidad de Carbofurán suministrado en el agua. Teniéndose en cuenta que los rangos obtenidos en este estudio se encuentran en la normalidad para la Trucha Arco Iris. Al hallarse valores superiores de los normales puede provocar una deshidratación excesiva.

Dureza. Al realizar la prueba de correlación múltiple no se encontró relación con los demás parámetros (Anexo D). Los valores de dureza disminuyen por acción del Carbofurán suministrado al agua. Teniéndose en cuenta que los rangos obtenidos en este estudio se encuentran en la normalidad para la Trucha Arco Iris. Un pez en aguas duras se ve afectado en las funciones celulares de la piel provocando la muerte del animal.

Alcalinidad y pH. Al realizar la prueba de correlación múltiple el resultado fue bajo en relación con los demás parámetros (Anexo D).

Los valores de alcalinidad (Anexo J) se encuentra en los rangos normales para la Trucha sin afectar daños en el animal. Para el pH (Anexo K) los valores suben al reaccionar el grupo hidroxilo con los dos átomos de hidrógeno presentes en el compuesto de insecticida. La alcalinidad es un parámetro que mide la capacidad amortiguadora del sistema, generada fundamentalmente por los químicos

contaminantes (H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-}), las cuales afectan el pH dependiendo del químico predominante, el H_2CO_3 genera pH ácidos de acuerdo a:



Un precursor del H_2CO_3 es el CO_2 ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$). En los sistemas de este experimento al alterarse las condiciones naturales por presencia del toxico hace incrementar los valores de CO_2 , lo cual disminuye el nivel de correlación entre pH y alcalinidad.

En la (Tabla 8) se presentan trabajos realizados con Carbofurán, con sus respectivos resultados.

Tabla 8. Comparación de resultados de bioensayos reportados por otros investigadores

| | Paz & Lozada ¹ Pasto-Nariño 2005. | | | | Russo, Emerson ² Canada 1994 | | | Handy, Richard ³ England 1993 | | | Wurts, Durborow ⁴ Alabama 1992 | | | | Gonzalo, Carmen ⁵ Lima – Perú 2001 | | |
|----------------------------------|--|-----------------------|-------|-------|---|-------|------|--|-------|-------|---|-------|-------|------|---|-------|------|
| Tratamientos | T0 | T1 | T2 | T3 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 |
| Densidad Animales/replica | 10 | 10 | 10 | 10 | 7 | 7 | 7 | 14 | 14 | 14 | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | 8 | 8 |
| Agroquímico Dosificación mg/L | 0 | Carbamato 14 18 22 | | | Carbamato 7,5 13 20 | | | Carbamato 4,5 15 25,5 | | | Carbamato 0 15 25 30 | | | | Carbamato 0 18 25 | | |
| % de mortalidad a 96 horas | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 |
| Temperatura °C | 14,0 | 14,3 | 14,2 | 14,3 | 10,1 | 10,4 | 10,7 | 23,4 | 23,1 | 23,3 | 12,7 | 12,7 | 12,4 | 12,8 | 24 | 24 | 24 |
| PH | 7,35 | 8,09 | 8,38 | 8,51 | 7,50 | 7,47 | 7,22 | 7,94 | 8,01 | 8,41 | 7,2 | 7,71 | 7,94 | 8,71 | 7,74 | 7,21 | 8,40 |
| Sulfatos | 3,0 | 3,1 | 3,3 | 3,8 | 3,11 | 3,17 | 3,4 | 3,7 | 3,14 | 3,8 | 3,0 | 3,4 | 3,3 | 3,7 | 3,0 | 3,4 | 4,1 |
| Nitritos | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,11 | 0,09 | 0,12 | 0,17 | 0,09 | 0,15 | 0,22 | 0,11 | 0,12 | 0,12 | 0,14 | 0,11 | 0,10 | 0,18 |
| Dureza | 21,5 | 21,8 | 22,4 | 22,1 | 21,07 | 22,4 | 22,8 | 22,0 | 21,7 | 22,4 | 20,9 | 21,7 | 22,1 | 22,8 | 20,9 | 20,9 | 22,4 |
| Alcalinidad | 29,1 | 30,0 | 29,9 | 30,2 | 27,9 | 29,4 | 29,8 | 30,4 | 29,5 | 30,14 | 28,7 | 29,8 | 30,3 | 30,7 | 28,7 | 29,0 | 30,9 |
| Nitratos | 0,06 | 0,96 | 1,36 | 1,53 | 1,2 | 1,4 | 1,54 | 1,4 | 1,5 | 1,75 | 0,05 | 0,95 | 1,57 | 1,53 | 0,05 | 0,91 | 1,55 |
| amonio | 0,01 | 0,03 | 0,054 | 0,135 | 0,026 | 0,030 | 0,11 | 0,12 | 0,028 | 0,19 | 0,01 | 0,021 | 0,137 | 0,14 | 0,01 | 0,032 | 0,15 |

Fuente: ¹ Esta investigación; ² Russo, Emerson, P. 52-54; ³ Handy, Richard, p. 422-442; ⁴ Wurts, Durborow, p. 6-22; ⁵ Gonzalo, Carmen, p. 24-31.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- Se encontró diferencias altamente significativas (95%) en la variable de calidad de agua, donde según la prueba de Tukey (95%) demostró una hipótesis nula en los tratamientos T1 con 14 mg/L, T2 con 18 mg/L y T3 con 22 mg/L con una mortandad del 100%.
- El Carbofurán causa carbamilación reversible de la enzima acetilcolinesterasa afectando las uniones neuroefectoras parasinpaticas, mioneurales del músculo, ganglios autónomos y el cerebro.
- La especie Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss*, a demostrado ser bastante adecuada y recomendable para la realización de bioensayos con el interés de evaluar la toxicidad en cuerpos de agua con fines de proyectos acuícolas, debido a la sensibilidad a presencia de determinados agentes tóxicos.
- El patrón de toxicología para los tratamientos evaluados con Carbofurán presentaron reacciones como: hiperactividad, actitud de alerta, movimiento opercular lento, reacción de huida presencia excesiva de mucus, vomito, nado errático y perdida del eje de natación.
- La especie en los tratamientos T1-14 mg/L, T2-18 mg/L y T3-22 mg/L, presentó siempre una sensibilidad clínica y patológica de piel, branquias e hígado a la exposición del producto, sufriendo el tejido epitelial modificaciones estructurales de las células caliciformes, las células cilíndricas se vieron afectadas por la perdida de su núcleo y además las principales modificaciones de las branquias e hígado están relacionadas con la alteración del color y por la presencia de atrofia o degeneración celular.
- Los diferentes insecticidas como los carbamatos al hacer contacto con el agua afectan la acción sistémica de la biota acuática, mediante el estudio de toxicidad se determinó que éste puede producir espasmos musculares, como

también debilitar o parálisis en las alteraciones sensoriales, conductuales e incoordinación o depresión de la función motora en el cerebro.

- Los resultados de histopatología aportan un patrón de referencia mas objetivo encaminados a estudios de vigilancia toxicológica, monitoreo ambiental, diagnostico de rutina y de investigación de campo y experimental.
- Los factores ambientales del agua, particularmente los materiales y trazas en suspensión y hasta ahora no eficientemente caracterizados, juegan un papel importante en la contaminación acuática, por medio de sustancias agroquímicas, produciendo un desarrollo de lesiones, enfermedades y el eventual desencadenamiento de la muerte.
- En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, observando que estos fueron mayores en el tratamientos T3, sin embargo se encontró normalidad en los rangos aceptados por al especie lo que indican que estos no son los responsables de la muerte de los animales, a excepción al amonio el cual registró un aumento de 0,11 ppm que pudo deberse a la excreción de mucus, urea y regurgitación al entrar en contacto con el toxico; Y el pH el cual aumento en un 0,5 debido a la presencia de toxico, rango que no causa una intoxicación aguda ni muerte de los animales, sino por la presencia del insecticida carbamato Carbofurán en el agua.
- Se encuentra una relación adecuada de asociación entre los siguientes pares de variables: Sulfatos y Amonio, pH y Amonio, Nitratos y Nitritos, Sulfatos y Nitratos y pH y Nitratos. De igual manera se consideró que existe relación de dependencia significativa entre los pares de variables nombradas anteriormente. Encontrando que la ecuación de regresión que representa a los pares de variables como Sulfatos y Amonio es de tipo polinómica, pH y Amonio es de tipo potencial, Nitratos y Nitritos es de tipo polinómica, sulfatos y Nitratos es de tipo polinómica y pH y Nitritos es de tipo polinómica.

7.2 RECOMENDACIONES

- Ejecutar ensayos de toxicidad con Carbofurán (Furadan® 3GR) en Trucha Arco Iris *Oncorhynchus mykiss* con dosis menores a las realizadas, como también realizar el test de toxicidad para encontrar rangos toxicológicos, evaluando su sintomatología y la dosis mínima de toxicidad.
- Ejecutar proyectos e investigaciones de farmacología y toxicología en cuerpos de agua utilizados en la acuicultura, con el propósito de identificar las cualidades de cualquier sustancia endógena o exógena que podría presentar peligros ecológicos y ambientales.
- Continuar con la línea de investigación en el campo de farmacología y toxicología con el fin de estandarizar un paquete tecnológico acuícola mas completo, logrando así la identificación de las sustancias tóxicas más usadas en nuestra región para control de plagas.
- Adecuar protocolos terapéuticos preventivos que sean capaces de eliminar los peligros de una intoxicación dirigidos a investigaciones acuícolas.
- Implementar un programa de toxicología, encaminado a la investigación de cuerpos de agua destinados a la rama de la acuicultura, ya que son afectados por productos agrícolas como es el caso de insecticidas, fungicidas, acáridas etc.
- Se recomienda que las empresas que facilitan los productos químicos agropecuarios ayuden a los campesinos a tener conciencia con el ambiente acuático para prevenir la contaminación y muerte de las cuencas de nuestra región.
- Implementar charlas de capacitación para un buen uso de los insecticidas y la limpieza adecuada de los equipos utilizados, sin contaminar fuentes de agua.
- Implementar un programa que permita optimizar el uso de sustancias toxicas con la participación de Salud Publica y CORPONARIÑO

8. BIBLIOGRAFIA

AENOR, Ronald. Determinación de la inhibición de la movilidad de *Brachydanio rerio*. Ensayo de toxicidad aguda con carbamato. México: Panamericana, 1996. p. 17

ALBELO, Allen. Histología. Gran Enciclopedia Medica. Madrid: Interamericana, 1980. p. 1207

AMAYA, R, y otros. Generalidades sobre el cultivo de la trucha. Bucaramanga: Panamericana, 1982. pp.125 - 132

ANDRADE, Roberto. Fish pathology. Harcourt publisher limited. North America: Survey, 1987. p. 69

ANDREY, Tyler. Histología animal, México: Torres, 1996, p. 49

ANTHONY, Richard. Etude experimentale des facteurs determinant la morphologie the fish. Paris: Saunders, 1913. p. 465

BAYER CROPSCIENCES, (online) (Bogotá, D.C), 17 Enero 2004. Disponible en Internet: [http://www.afipa.cl/afipa/bayer crop/carbofuran.pdf](http://www.afipa.cl/afipa/bayer%20crop/carbofuran.pdf)

BERNABE, Manuel. Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Zaragoza: Louis, 1996. p. 148

BERNET, Daniel y otros. Histopathology in fish. Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. Madrid: Fish Dis, 1999. p. 34

BOYD, Cavin. Water quality management for pond fish culture. New York: Elsevier, 1981. p. 142

CABRERA. Daniel, y otros. Determinación de los Compuestos Carbamatos: Carbofurán y Mancozeb; en Agua, Suelo y Cultivo de papa de la Vereda Jurado, Municipio de Pasto, Colombia 2005. p.p 30-31

CACERES, Leen. El cultivo de la trucha. España: Folio. 1978. p. 520

CARDENAS, Katie, y otros. Facts about carbaril with sabaleta *Brycon henni*. (online) (Southerneastern) 21 Agosto. 2003. Disponible en Internet: <http://www.pond.net/fish1ifr/salpest.pdf>

CARDOSO, Edmund. Histopathology- morphological changes. Andorra: Biol, 1996. p. 778

CARLSON. Gustavo, y otros Pesticides and Pest Management En: Carlson, Zilberman and Miranowski. Agricultural and Environmental Resource Economics. Oxford University: Llon, 1993. p.p 125

CHAMBERS, J.E. Inhibition of acetylcholinesterase and aliesterases in fish, aquatic toxicology, New York: Mark, 1995. p. 311

CHILD, Charles. Differential reduction of vital dyes in the early development of liver, Lond: Roux, 1936. p. 135

CORRADO, Herman. Ictiología, Madrid: Vergara, 1980. pp. 1140 – 1157

COSSARINI, Nicol. Effects of oral doses of the insecticide on carp *Cyprinus carpio*. France: Guide, 1990. p. 36

COUTANT, Chart. Gat is normative for fish pathogens. Dormant: Aquat Animal, 1998. p. 101

COX, Caroline. Glyphosate fact sheet part 2 of 2 J. pest (online) (Alabama) 11 Junio. 2002. Disponible en Internet: <http://www.mindfully.org/pesticide/carbamate-factsheet-cox2html>

DAVIS, Simón, *et. al.* Fisiología de peces. Santiago de Chile: Panamericana, 1992 p. 142.

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA Y BIOLOGÍA CELULAR. Histología y Biología celular. (online) (Guadalajara), 22 Febrero. 2004. Disponible en internet: <http://www.uaq.mx/27/histologia/import.htm>

DOMITROVIC, H.G. El Empleo de los Peces Autóctonos para la Realización de Ensayos de Toxicidad. Argentina: Louis, 1997. p.p. 37 – 42

DORRIS, Fabians. Development of exstructure and function in the nerve system in Salmonidae, Lond: Zool. 1935. p.491

DOST, Frederick. Evaluation of herbicide Factsheet, Glyphosate by Caroline Cox in Journal of Pesticide Reform. Santa Cruz: JPR, 1998. pp. 3-15

DUFOL, Arey, y otros. Toxicología Clínica., Barcelona: Springer-Verlag Ibérica, 1.993. pp. 233-253

EIRAS, Janelli. Ocorrença de agentes com potencial patogénico em peixes. Estado do Paraná: Anais. 1998. p. 697.

FAIRCHILD, Franklin. Effects of an herbicide and insecticide mixture in aquatic. New York: Arch, 1994. p. 533

FERGUSON, Hill. Systemic pathology of fish. A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts. North Carolina: University press, 1989. p. 16

FERREIRA, Harold. Toxicidad aguda y contaminación ambiental con insecticidas para peces, Madrid: Rets, 1998, p. 69

FLOYD, Frank. Medical management of channel catfish. Ontario: Education, 1994. p. 14

FRASER, Rubiela. Studies on the hypoblast of the young chick embryo, Englewood: Cliffs, 1955. p. 42

GHITTINO, P. Tratado de las enfermedades de los peces, Zaragoza: Acribia, 1991. p. 353

GIESY, John y otros. Ecotoxicological risk assessment for carbamatos (online) (USA) 18 Octubre. 2003. Disponible en Internet:
http://tearamundo.org/controlmanage/docs/carbamate_aqua_risk.pdf.

GOLSTEIN, Edward. Avaliação da toxicidade aquática, Brazil: Arch. 1994. p.p. 85 - 87

GONZALO, Carmen. Manual de evaluación y manejo de sustancias toxicas, Perú: Panamericana, 2001. p. 24 – 31.

GUÍO, Manuel. Control de plaguicidas, España: Lorens, 1992. p.44

GUPTA, Simon. Observations fish biology. Canada: Huntingdon, 1974. p. 13

HANDY, Richard y otros. Nitrogen pollution in mariculture toxicity and excretion of nitrogen with Carbofurán compounds Biol. Fish. England: Elsevier, 1993. p.37

HELLAWELL, Jack. Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. London: Elsevier, 1989. p. 546

HERNANDEZ, Néstor. Fisiología de peces y mariscos (online) (México), 25 Agosto. 2005. Disponible en Internet:
<http://www.fondef.cl/bases/fondef/INST/0002342.html>.

HORTS, Hamilton. Analysis of Chromatographic in waters of agricultural use. Philadelphia: Gross, 1984. p. 141

HUNN, John. History of acute toxicity test with fish. Investigations in Fish Control. London: Rdsch, 1989. p. 10

INSTITUTO DE PESCA Y ACUACULTURA (INPA), Boletín estadístico pesquero, Santa Fe de Bogotá: Nacional, ministerio de agricultura y desarrollo rural, 1995. pp. 21 – 25

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO (ICA). Guía para el Control de Plagas. Bogotá: Inico, 1987. pp. 1 – 12.

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA NUCLEARES (ISCTN). Principales bioensayos para determinar toxicidad en el agua. (online) la Habana Cuba. 6 Enero 2004. Disponible en Internet:
<http://www.puma.sskkii.gu.se/cubataller7/VTaller/0303.html>.

JUAREZ, T.P. Evaluación de uso de insecticidas en peces. Argentina: Trujillo. 1982. p. 1550

KINKLELLIN, P. Tratado de las Enfermedades de los Peces. Zaragoza: Elsevier. 1991. pp. 3 - 6.

KOSINSKI, Jymm. 1984. The destination and effects of the insecticide in flow-to inclination of the discharge of agricultural drainage in the fish. Oxford: Dordrecht, 1989. p. 165

LAGLER Karl, Ictiología, México: Azteca, 1984. pp. 78 – 102

LAUREN, Dan. The fish gill: A sensitive target for waterborne pollutants. Aquatic toxicology and risk assessment. Philadelphia: Mc Graw-Hill, 1991. p. 244

LUNA, Gonzalo. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology. Toronto: Mc Graw-Hill, 1968. p. 281

MACHADO, Laura. La acuicultura y la calidad de agua. México: Safervo. 1990. p. 54

MACHADO, Stevan. Descripción Histológica y Estructural de Branquias. Universidad Federal de Panamá. Departamento de Biología Celular. Panamá: Faros, 1992. p. 96

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Manejo y Control de Plagas e Insectos. México: Noriega, 1988. pp. 389 – 393

NESCOVIK, Niel y otros. Biochemical and histopathological effects of carbamate on redcarp, *Cyprinus carpio*. New York: environ, 1996. p. 302

ORGANIZACIÓN DE NORMAS INTERNACIONALES (ISO). Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater- Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). (online) (EEUU), 25 Agosto 2004. Disponible en Internet: <http://www.fondef.eu/normaiso/inst/10229.html>.

PALADE, Cristina. Morphological and biochemical study of fish. Cytologia. Filadelfia: Saunderst, 1956. p. 171

PETER. S. y otros. Environ-Toxicol-Water-Quality. London: Part, 1995 pp 179

RAMÍREZ, y otros. Ensayos sobre la caracterización clínica de la intoxicación por glifosato en alevinos de cachama blanca *Piaractus brachypomus*. Villavicencio: Orinoquia, 2003. pp. 70 - 100

REICHHOLF, Joseph, El agua, la vida y la ciencia. Barcelona: Asto, 1979. p. 12

REIMSCHUESSEL, Ronald, y otros. Necropsy examination of fish. The veterinary clinics of North America. New York: Tropical fish medicine, 1988. p. 431

RIASCOS, Eduardo, y otros. Manejo Técnico de la Estación Piscícola de Guairapungo en el Lago Guamúes Municipio de Pasto. Pasto. 2000, p.20 . Informe de Pasantía (Ingeniería en Producción Acuícola). Universidad de Nariño. Ciencias Pecuarias. Programa de Ingeniería en Producción Acuícola.

RIZZO, Edmundo. Biología de peces de agua dulce. México: Panamericana, 2003. p. 347

ROBERTH, Paul. Fisiología de salmón, Canadá: Panamericana, 1992. p. 400

ROBERTS, Ric. Fish pathology. Harcourt publisher limited. Ocanogan: Bould edition, 2001. p. 69

RODRÍGUEZ, Byron. Análisis Microscópica de piel en peces. Brasil: Minus, 1995. p.105

RODRÍGUEZ, Ramón. Toxicidad con amonio en peces. Chile: America 1995. p.168

ROSS, Gruys. Fish journal pathology. Iowa State: Railway, 2001. p. 16

RUSSO, Emerson y otros. Acute Toxicidad de nitrito to rainbow trout *Salmo gairdneri* effects of pH, nitrite, species, and anion species for carbofuran. Canadá, J. fish. Aquat. Sci , 1994. p.p. 39-39

SAGAON, Natalia. Captura y toxicidad en peces (online) (México) 15 Octubre. 2004. Disponible en Internet: <http://www.ultramarinos.com.mx/octopus/enero03/articulos/toxicidadpeces.html>.

SANDOVAL, Mal. Efectos Producidos por el Biocida Carbofurán® Sobre Larvas de *Physalaemus biligonigerus*. Argentina: Levi, 2003. p. 149

SANDOVAL, Pool. Las truchas y su cultivo, Bogotá: incoder, 1998. p. 58

SANTIAGO, Santos. Effects of oxail on hyperplasic hepatica of free-living in goldfish. Texas: Manage, 1995. p. 352

SANTOS. Investigación de estudios histológicos pesqueros y agrícolas. Sao Paulo: Rtes, 1995.. p. 39

SCHULZ, Daniel. Proliferate endocarditic in the heart of carp after exposure to the insecticide, London: Topics, 1990. p. 74

SCORTECCI, George. Los animales como son, donde viven, como viven. Barcelona: Vergara, 1967. p. 367

SEPTAL, Andrus. Anatomía animal, Madrid: Vergara, 1990. p. 670

SILVA, Tom. Environmental manipulation to stimulate in fish rearing ponds. Amsterdam: Glypho. 1984. p.380

SPINOSA, Alberth. Empleo de peces para la realización de ensayos de toxicidad. México: Azteca. 1970. p. 68

SUSEELA, Kelvin. Toxic effects of insecticide, New York: Llon, 1994, p. 26

STEVES, Francis. Evaluation of the Toxicity with Saltpeters in Fish, Washigton: Toxin. 1991. p. 78

----- . Fundamentos de limnología, Washinton: Moses, 1996. p.p. 500 –525

STRAUS, Toord. Determination of inhibition of the mobility for toxicidade in fish, London: Mason, 1987. p. 69

STUARDT, Daniel. DDT. Pesticide fact sheet and forestry use on medaka *Oryzias latipes* (online) (Alaska) 11 Agosto. 2002. Disponible en Internet: <http://www.uaptimberland.com/nlinks.pdf>

VELASCO, Carmen. Determination of the prolonged toxicity of substances to freshwater- Method for evaluating the effects of substances on the growth rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): España: Vergara. 1997, pp. 234-252.

WALBAUM, Descripción en salmónidos_ (online) (España), 17 Enero. 2004. Disponible en Internet: <http://www.fishbase.org>.

WOOTON, Richard. Environmental factors in fish reproduction. Netherlands: Goos, 1982. p. 210

WURTS, Durborow. Interactions of pH, carbonate, alkalinity and hardness with carbamate in fish ponds. Srac publ. Alabama: J. Fish. Bull., 1992. p.p. 1-4

ZAGATTO, Philip. Toxicidade em águas, São Paulo, Brasil: Gretto, 1991, p. 20

ANEXOS

Anexo A. Protocolo del proceso histológico para peces

Estudio histológico. Para el procedimiento histológico, se retirará la muestra de hígado, branquias y piel delicadamente para su respectivo protocolo.

- **Fijación.** a continuación se fijará y conservará en soluciones de formaldehído al 10% amortiguado a un pH 7, conservando los tejidos de forma que muestren el mayor parecido posible al estado vivo. Interrumpiendo los precensos celulares que ocurren a la muerte de la célula.
- **Deshidratación.** Las muestras se procesarán a eliminar el fijador, se realiza la deshidratación eliminando en contenido de agua del tejido. Se aplica una serie gradual de soluciones acuosas de agente deshidratante como el alcohol etílico o acetona al 50% luego a 60%, 70%, 80%, 90%, 96% alcanzando una manera paulatina hasta llegar al 100% evitando la deformación de los tejidos.
- **Aclaración o diafanización.** Luego de deshidratar el tejido, se pasa a una solución misible como el xileno o xilol, para aclarar el tejido ya que se torna transparente al estar en contacto con el alcohol, cambiando su índice de refracción.
- **Inclusión o impregnación.** Para la inclusión se utiliza sustancias firmes y consistentes como la gelatina y parafina obteniendo cortes suficientemente finos para ser observados al microscopio. Se coloca la muestra en un recipiente agregando parafina fundida a 60°C, luego la muestra se la coloca en una estufa por una hora manteniendo la temperatura a 60°C. Debido al calor, el xilol o el benzol se evaporaran y los espacios ocupados por ellos son ahora ocupados por la parafina, posteriormente se coloca la muestra y un poco de parafina fundida en un molde de plástico de forma rectangular y se deja solidificar a temperatura ambiente, formando un bloque sólido de parafina con la muestra de tejido incluido.
- **Sección o corte.** El bloque se corta en secciones suficientemente delgadas como para permitir el paso de luz. Con un grosor entre 3 y 7 micras. Para estos cortes se utiliza la ayuda de un micrótopo.

- **Montaje y tinción.** Los cortes se colocaran sobre un portaobjetos a los que se les agrega una cantidad de bálsamo, el cual actúa como adhesivo. La parafina se elimina en un solvente orgánico y luego se incluye en xilol, el corte se rehidrata pasando por una serie de graduaciones decrecientes de alcohol etílico hasta llegar a una solución 100% de agua.
- **Tinción de tejido.** Para la tinción se emplea colorantes como hematoxilina y eosina. Una vez teñido, se hidrata de nuevo, de tal manera que pueda fijarse permanentemente al cubreobjetos. El cubreobjetos no solo protege al tejido sino facilita observar al microscopio y tomar fotos posteriormente.
- **Toma de fotografías.** Una vez realizadas las placas histológicas, se procederá a la toma de microfotografías con una cámara digital NIKON E-950 ayudada con un microscopio NIKON ECLIPSE E-200 a objetivos 4X y 10X para su posterior interpretación.

Anexo B. Mortalidades de acuerdo a cada replica por tratamiento

REPLICA N°1

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 1 | 4 | 3 | 2 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 3 | 4 | 3 | - | - | - | 10 |
| 22 | - | 4 | 5 | 1 | - | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°2

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 2 | 2 | 5 | 1 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 5 | 3 | 1 | 1 | - | - | 10 |
| 22 | - | 6 | 1 | 2 | - | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°3

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 2 | 3 | 3 | 2 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 4 | 2 | 2 | 2 | - | - | 10 |
| 22 | - | 3 | 2 | 4 | 1 | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°4

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 3 | 2 | 1 | 4 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 4 | 3 | 2 | 1 | - | - | 10 |
| 22 | - | 3 | 2 | 3 | 2 | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°5

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 3 | 3 | 2 | 2 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 4 | 2 | 2 | - | - | - | 10 |
| 22 | - | 6 | 3 | 1 | - | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°6

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|-----------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 5 | 2 | 1 | 2 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 3 | 3 | 3 | 1 | - | - | 10 |
| 22 | - | 5 | 3 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°7

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|-----------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 2 | 3 | 3 | 2 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 6 | 1 | 2 | - | - | - | 10 |
| 22 | - | 3 | 4 | 1 | 2 | - | - | - | - | - | 10 |

REPLICA N°8

| Mg/L | 0h | 4h | 8h | 12h | 16h | 20h | 24h | 28h | 32h | 36h | Acumulado |
|-----------|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|
| 0 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 |
| 14 | - | - | - | - | - | - | 4 | 2 | 1 | 3 | 10 |
| 18 | - | - | - | - | 6 | 3 | 1 | - | - | - | 10 |
| 22 | - | 7 | 1 | 1 | - | - | - | - | - | - | 10 |

Anexo C. Parámetros fisicoquímicos para cada tratamiento durante las ocho replicas

| | Amonio | | | | Nitritos | | | | Nitratos | | | | Sulfatos | | | | Dureza | | | | pH | | | | Temperatura | | | |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 |
| Replica 1 | 0,010 | 0,030 | 0,052 | 0,160 | 0,09 | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,06 | 0,90 | 1,10 | 1,30 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 4,0 | 21,7 | 21,0 | 22,0 | 21,0 | 7,32 | 7,92 | 8,40 | 8,55 | 14,1 | 14,5 | 14,2 | 14,3 |
| Replica 2 | 0,010 | 0,026 | 0,033 | 0,140 | 0,09 | 0,11 | 0,11 | 0,11 | 0,06 | 0,90 | 1,20 | 1,30 | 3,1 | 3,2 | 3,2 | 3,4 | 21,8 | 21,0 | 22,0 | 22,0 | 7,35 | 7,94 | 8,40 | 8,55 | 14,4 | 14,4 | 14,2 | 14,3 |
| Replica 3 | 0,010 | 0,028 | 0,034 | 0,110 | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,12 | 0,06 | 0,90 | 1,50 | 1,90 | 3,0 | 3,2 | 3,5 | 3,4 | 21,0 | 22,1 | 22,5 | 22,3 | 7,33 | 8,11 | 8,44 | 8,57 | 14,0 | 14,4 | 14,2 | 14,3 |
| Replica 4 | 0,010 | 0,041 | 0,086 | 0,190 | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,11 | 0,05 | 1,00 | 1,50 | 1,50 | 3,0 | 3,1 | 3,2 | 3,9 | 22,0 | 22,1 | 23,0 | 23,0 | 7,40 | 8,00 | 8,42 | 8,55 | 14,0 | 14,0 | 14,1 | 14,0 |
| Replica 5 | 0,010 | 0,027 | 0,055 | 0,120 | 0,09 | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,06 | 1,00 | 1,50 | 1,80 | 2,9 | 3,0 | 3,5 | 4,0 | 21,5 | 22,0 | 22,0 | 22,0 | 7,30 | 7,95 | 8,00 | 8,30 | 14,0 | 14,1 | 14,1 | 14,1 |
| Replica 6 | 0,010 | 0,023 | 0,068 | 0,150 | 0,09 | 0,11 | 0,10 | 0,11 | 0,06 | 1,00 | 1,30 | 1,30 | 3,0 | 3,2 | 3,5 | 3,9 | 21,0 | 21,0 | 22,0 | 21,0 | 7,35 | 8,50 | 8,90 | 8,90 | 14,0 | 14,0 | 14,0 | 14,0 |
| Replica 7 | 0,010 | 0,041 | 0,071 | 0,100 | 0,10 | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,05 | 1,10 | 1,10 | 1,20 | 3,0 | 3,1 | 3,2 | 3,4 | 22,0 | 23,1 | 23,1 | 23,3 | 7,40 | 8,20 | 8,20 | 8,30 | 14,0 | 14,5 | 14,5 | 14,7 |
| Replica 8 | 0,010 | 0,022 | 0,031 | 0,110 | 0,10 | 0,11 | 0,12 | 0,13 | 0,06 | 0,90 | 1,70 | 1,90 | 3,0 | 3,3 | 3,5 | 4,0 | 21,0 | 22,2 | 22,2 | 22,3 | 7,33 | 8,10 | 8,30 | 8,37 | 14,0 | 14,1 | 14,1 | 14,3 |
| Promedio | 0,010 | 0,030 | 0,054 | 0,135 | 0,10 | 0,11 | 0,11 | 0,11 | 0,06 | 0,96 | 1,36 | 1,53 | 3,0 | 3,1 | 3,3 | 3,8 | 21,5 | 21,8 | 22,4 | 22,1 | 7,35 | 8,09 | 8,38 | 8,51 | 14,1 | 14,3 | 14,2 | 14,3 |

Anexo D. Análisis de correlación múltiple para la calidad de agua

| | amonio | nitritos | nitratos | sulfatos | dureza | alcalinidad | pH |
|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|----|
| amonio | | | | | | | |
| nitritos | 0,45433886 | | | | | | |
| nitratos | 0,67578816 | 0,79806585 | | | | | |
| sulfatos | 0,82427239 | 0,58008993 | 0,72745903 | | | | |
| dureza | 0,2740303 | 0,36709581 | 0,43792192 | 0,14960479 | | | |
| alcalinidad | 0,48109264 | 0,52229577 | 0,72119982 | 0,60714533 | 0,24209123 | | |
| pH | 0,7123103 | 0,62766382 | 0,87348814 | 0,67568057 | 0,32179303 | 0,64456446 | |

Anexo E. Análisis de varianza para Amonio

| Fuente | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|-------------|----|-------------------|----------------|-----------|-----------|
| Tratamiento | 3 | 0,072 | 0,024 | 68,45 | **0,0000 |
| Error | 28 | 0,009 | 0,000 | | |

(**) Altamente significativo ($P < 0,01$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|-------------------|
| 0 | 0,01 | X |
| 1 | 0,02 | X X |
| 2 | 0,05 | X |
| 3 | 0,13 | X |

Anexo F. Análisis de varianza para Nitritos

| Fuente | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|-------------|----|-------------------|----------------|-----------|-----------|
| Tratamiento | 3 | 0,0013 | 0,00045 | 10,38 | **0,0001 |
| Error | 28 | 0,0012 | 0,000043 | | |

(**) Altamente significativo ($P < 0,01$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|-------------------|
| 0 | 0,095 | X |
| 1 | 0,106 | X |
| 2 | 0,108 | X |
| 3 | 0,11 | X |

Anexo G. Análisis de varianza para Nitratos

| | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|--------------------|-----------|--------------------------|-----------------------|------------------|------------------|
| Tratamiento | 3 | 10,35 | 3,45 | 97,38 | **0,0000 |
| Error | 28 | 0,99 | 0,035 | | |

(**) Altamente significativo ($P < 0,01$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos |
|--------------------|--------------|--------------------------|
| 0 | 0,05 | X |
| 1 | 0,96 | X |
| 2 | 1,36 | X |
| 3 | 1,52 | X |

Anexo H. Análisis de varianza para Sulfatos

| Fuente | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|--------------------|-----------|--------------------------|-----------------------|------------------|------------------|
| Tratamiento | 3 | 3,76 | 1,25 | 52,13 | **0,0000 |
| Error | 28 | 0,67 | 0,024 | | |

(**) Altamente significativo ($P < 0,01$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos | |
|--------------------|--------------|--------------------------|---|
| 0 | 3,0 | X | |
| 1 | 3,13 | X | X |
| 2 | 3,32 | | X |
| 3 | 3,9 | | X |

Anexo I. Análisis de varianza para Dureza

| Fuente | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|--------------------|-----------|--------------------------|-----------------------|------------------|------------------------|
| Tratamiento | 3 | 3,28 | 1,09 | 2,64 | ^(NS) 0,0687 |
| Error | 28 | 11,60 | 0,41 | | |

(NS) No significativo ($P > 0,05$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos |
|--------------------|--------------|--------------------------|
| 0 | 21,5 | X |
| 1 | 21,8 | X |
| 2 | 22,11 | X |
| 3 | 22,35 | X |

Anexo J. Análisis de varianza para Alcalinidad

| Fuente | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|-------------|----|-------------------|----------------|-----------|-----------|
| Tratamiento | 3 | 6,24 | 2,08 | 16,21 | **0,0000 |
| Error | 28 | 3,59 | 0,12 | | |

(**) Altamente significativo ($P < 0,01$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|-------------------|
| 0 | 29,02 | X |
| 1 | 29,93 | X |
| 2 | 30,0 | X |
| 3 | 30,15 | X |

Anexo K. Análisis de varianza para pH

| Fuente | GL | Suma de cuadrados | Cuadrado medio | F - Ratio | P - Value |
|-------------|----|-------------------|----------------|-----------|-----------|
| Tratamiento | 3 | 6,51 | 2,17 | 60,98 | **0,0000 |
| Error | 28 | 0,99 | 0,035 | | |

(**) Altamente significativo ($P < 0,01$)

Método: Tukey HSD 95,0%

| Tratamiento | Media | Grupos Homogéneos |
|-------------|-------|-------------------|
| 0 | 7,34 | X |
| 1 | 8,09 | X |
| 2 | 8,38 | X |
| 3 | 8,51 | X |

Anexo L. Análisis estadístico para Temperatura

| Tratamientos | Promedio | Desviación Estándar |
|---------------------|-----------------|----------------------------|
| 0 | 14,01 | 0,035 |
| 1 | 14,25 | 0,220 |
| 2 | 14,17 | 0,148 |
| 3 | 14,25 | 0,226 |
| TOTAL | 14,17 | 0,193 |

Anexo M. Análisis estadístico para movimientos operculares

| Tratamientos | Promedio | Desviación Estándar |
|--------------|----------|---------------------|
| 0 | 116,0 | 0,01 |
| 1 | 88,5 | 0,70 |
| 2 | 86,0 | 0,01 |
| 3 | 70,0 | 0,02 |

Anexo N. Registro de peso y talla para *O. mykiss* utilizados en el bioensayo de toxicidad

| Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla |
|-----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|
| 1 | 35,0 | 16 | 30 | 34,9 | 15,9 | 59 | 35,4 | 16,5 | 88 | 34,6 | 15,6 |
| 2 | 34,5 | 15,9 | 31 | 34,5 | 15,6 | 60 | 35,4 | 16,5 | 89 | 34,7 | 15,8 |
| 3 | 35,0 | 16 | 32 | 34,4 | 15,2 | 61 | 34,6 | 15,8 | 90 | 34,1 | 15,2 |
| 4 | 34,8 | 16 | 33 | 34,4 | 15,6 | 62 | 34,8 | 15,9 | 91 | 34,8 | 15,9 |
| 5 | 34,5 | 15,9 | 34 | 34,4 | 15,7 | 63 | 34,2 | 15,3 | 92 | 34,5 | 15,8 |
| 6 | 34,8 | 15,9 | 35 | 34,5 | 15,8 | 64 | 34,1 | 15,8 | 93 | 35,0 | 16 |
| 7 | 35,6 | 16,8 | 36 | 34,5 | 15,8 | 65 | 35,1 | 16,2 | 94 | 35,0 | 16 |
| 8 | 35,3 | 16,5 | 37 | 34,5 | 15,8 | 66 | 35,6 | 16,8 | 95 | 35,0 | 16 |
| 9 | 35,4 | 16,7 | 38 | 34,6 | 15,6 | 67 | 35,4 | 16,5 | 96 | 35,0 | 16 |
| 10 | 35,4 | 16,5 | 39 | 34,7 | 15,8 | 68 | 35,5 | 16,8 | 97 | 35,0 | 16,1 |
| 11 | 34,6 | 15,9 | 40 | 34,1 | 15,6 | 69 | 35,5 | 16,8 | 98 | 35,0 | 16,1 |
| 12 | 34,8 | 15,9 | 41 | 34,8 | 15,9 | 70 | 35,7 | 16,9 | 99 | 35,0 | 16,1 |
| 13 | 34,2 | 15,2 | 42 | 34,5 | 15,8 | 71 | 33,8 | 14,5 | 100 | 35,5 | 16,8 |
| 14 | 34,1 | 15,5 | 43 | 35,0 | 16 | 72 | 34,6 | 15,8 | 101 | 36,0 | 17 |
| 15 | 35,1 | 16,2 | 44 | 35,0 | 16 | 73 | 33,9 | 14,9 | 102 | 35,5 | 16,8 |
| 16 | 35,6 | 16,8 | 45 | 35,0 | 16 | 74 | 33,7 | 14,2 | 103 | 34,8 | 15,9 |
| 17 | 35,4 | 16,5 | 46 | 35,0 | 16 | 75 | 34,0 | 15 | 104 | 34,7 | 15,8 |
| 18 | 35,5 | 16,8 | 47 | 35,0 | 16 | 76 | 34,0 | 15 | 105 | 34,0 | 15 |
| 19 | 35,5 | 16,8 | 48 | 35,0 | 16 | 77 | 34,0 | 15 | 106 | 34,0 | 15 |
| 20 | 35,7 | 16,9 | 49 | 35,0 | 16 | 78 | 34,0 | 15 | 107 | 34,1 | 15,3 |
| 21 | 33,8 | 14,5 | 50 | 35,4 | 16,5 | 79 | 34,6 | 15,6 | 108 | 34,5 | 15,8 |
| 22 | 34,6 | 15,9 | 51 | 35,0 | 16 | 80 | 34,9 | 16 | 109 | 34,4 | 15,7 |
| 23 | 33,9 | 14,5 | 52 | 34,5 | 15,8 | 81 | 34,5 | 15,8 | 110 | 34,6 | 15,6 |
| 24 | 33,7 | 14,2 | 53 | 35,0 | 16 | 82 | 34,4 | 15,7 | 111 | 34,1 | 15,5 |
| 25 | 34,0 | 15 | 54 | 34,8 | 15,9 | 83 | 34,4 | 15,7 | 112 | 34,8 | 15,9 |
| 26 | 34,0 | 14,5 | 55 | 34,5 | 15,8 | 84 | 34,4 | 15,7 | 113 | 34,6 | 15,6 |
| 27 | 34,0 | 15,2 | 56 | 34,8 | 15,9 | 85 | 34,5 | 15,8 | 114 | 34,5 | 15,8 |
| 28 | 34,0 | 15,6 | 57 | 35,6 | 16,8 | 86 | 34,5 | 15,8 | 115 | 34,5 | 15,8 |
| 29 | 34,6 | 15,9 | 58 | 35,3 | 16,3 | 87 | 34,5 | 15,8 | 116 | 34,5 | 15,8 |

| Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla |
|-----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|
| 117 | 34,5 | 15,8 | 148 | 34,2 | 15,4 | 179 | 35,7 | 16,9 | 210 | 36,0 | 17 |
| 118 | 34,5 | 15,8 | 149 | 34,1 | 15,5 | 180 | 33,8 | 14,6 | 211 | 35,5 | 16,8 |
| 119 | 35,4 | 16,5 | 150 | 34,8 | 15,9 | 181 | 34,6 | 15,6 | 212 | 34,8 | 15,9 |
| 120 | 35,0 | 16,1 | 151 | 34,5 | 15,6 | 182 | 33,9 | 14,9 | 213 | 34,7 | 15,8 |
| 121 | 34,5 | 15,6 | 152 | 35,0 | 16,1 | 183 | 33,7 | 14,2 | 214 | 34,0 | 15,5 |
| 122 | 34,5 | 15,8 | 153 | 35,0 | 16,1 | 184 | 34,0 | 15 | 215 | 34,0 | 15,5 |
| 123 | 35,0 | 16,1 | 154 | 35,0 | 16,1 | 185 | 34,0 | 15 | 216 | 34,1 | 15,5 |
| 124 | 35,0 | 16,1 | 155 | 35,0 | 16,1 | 186 | 34,0 | 15 | 217 | 34,5 | 15,6 |
| 125 | 35,0 | 16,1 | 156 | 35,0 | 16,1 | 187 | 34,0 | 15 | 218 | 34,4 | 15,7 |
| 126 | 35,0 | 16,1 | 157 | 35,0 | 16,1 | 188 | 34,6 | 15,6 | 219 | 34,6 | 15,6 |
| 127 | 35,0 | 16,1 | 158 | 35,0 | 16,1 | 189 | 34,9 | 16 | 220 | 34,1 | 15,5 |
| 128 | 35,0 | 16,1 | 159 | 35,4 | 16,5 | 190 | 34,5 | 15,6 | 221 | 34,8 | 15,9 |
| 129 | 36,0 | 17 | 160 | 35,0 | 16,1 | 191 | 34,4 | 15,7 | 222 | 34,6 | 15,6 |
| 130 | 34,8 | 15,9 | 161 | 34,5 | 15,6 | 192 | 34,4 | 15,7 | 223 | 34,5 | 15,6 |
| 131 | 34,5 | 15,9 | 162 | 35,0 | 16,1 | 193 | 34,4 | 15,7 | 224 | 34,5 | 15,6 |
| 132 | 34,5 | 15,9 | 163 | 34,8 | 15,9 | 194 | 34,5 | 15,6 | 225 | 34,5 | 15,6 |
| 133 | 34,6 | 15,6 | 164 | 34,5 | 15,6 | 195 | 34,5 | 15,6 | 226 | 34,5 | 15,6 |
| 134 | 34,9 | 16 | 165 | 34,8 | 15,9 | 196 | 34,5 | 15,6 | 227 | 34,5 | 15,6 |
| 135 | 34,1 | 15,5 | 166 | 35,6 | 16,8 | 197 | 34,6 | 15,6 | 228 | 35,4 | 16,5 |
| 136 | 34,1 | 15,5 | 167 | 35,3 | 16,4 | 198 | 34,7 | 15,8 | 229 | 35,0 | 16,1 |
| 137 | 34,2 | 15,6 | 168 | 35,4 | 16,5 | 199 | 34,1 | 15,5 | 230 | 34,5 | 15,6 |
| 138 | 34,5 | 15,9 | 169 | 35,4 | 16,5 | 200 | 34,8 | 15,9 | 231 | 34,5 | 15,6 |
| 139 | 34,7 | 15,8 | 170 | 34,6 | 15,6 | 201 | 34,5 | 15,6 | 232 | 35,0 | 16,1 |
| 140 | 35,0 | 16,1 | 171 | 34,8 | 15,9 | 202 | 35,0 | 16,1 | 233 | 35,0 | 16,1 |
| 141 | 35,0 | 16,1 | 172 | 34,2 | 15,4 | 203 | 35,0 | 16,1 | 234 | 35,0 | 16,1 |
| 142 | 35,0 | 16,1 | 173 | 34,1 | 15,5 | 204 | 35,0 | 16,1 | 235 | 35,0 | 16,1 |
| 143 | 35,0 | 16,1 | 174 | 35,1 | 16,2 | 205 | 35,0 | 16,1 | 236 | 35,0 | 16,1 |
| 144 | 34,0 | 15 | 175 | 35,6 | 16,8 | 206 | 35,0 | 16,1 | 237 | 35,0 | 16,1 |
| 145 | 35,0 | 16,1 | 176 | 35,4 | 16,5 | 207 | 35,0 | 16,1 | 238 | 36,0 | 17 |
| 146 | 34,6 | 15,6 | 177 | 35,5 | 16,8 | 208 | 35,0 | 16,1 | 239 | 34,8 | 15,9 |
| 147 | 34,5 | 15,9 | 178 | 35,5 | 16,8 | 209 | 35,5 | 16,8 | 240 | 34,5 | 15,6 |

| Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla | Animales | Peso | Talla |
|------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------|-------------|--------------|-----------------------|------------------------|--------------|-----------------|-------------|--------------|
| 241 | 34,5 | 15,6 | 271 | 34,8 | 15,9 | 301 | 34,5 | 15,6 | 331 | 34,6 | 15,9 |
| 242 | 34,6 | 15,6 | 272 | 34,2 | 15,4 | 302 | 35,0 | 16,1 | 332 | 33,9 | 14,9 |
| 243 | 34,9 | 16 | 273 | 34,1 | 15,5 | 303 | 35,0 | 16,1 | 333 | 33,7 | 14,2 |
| 244 | 34,1 | 15,5 | 274 | 35,1 | 16,2 | 304 | 35,0 | 16,1 | 334 | 34,0 | 15,5 |
| 245 | 34,1 | 15,5 | 275 | 35,6 | 16,7 | 305 | 35,0 | 16,1 | 335 | 34,0 | 15,5 |
| 246 | 34,2 | 15,4 | 276 | 35,4 | 16,5 | 306 | 35,0 | 16 | 336 | 34,0 | 15,5 |
| 247 | 34,5 | 15,6 | 277 | 35,5 | 16,8 | 307 | 35,0 | 16 | 337 | 34,0 | 15,5 |
| 248 | 34,7 | 15,9 | 278 | 35,5 | 16,8 | 308 | 35,0 | 16 | 338 | 34,6 | 15,9 |
| 249 | 35,0 | 16,1 | 279 | 35,7 | 16,9 | 309 | 35,4 | 16,5 | 339 | 34,9 | 16 |
| 250 | 35,0 | 16,1 | 280 | 33,8 | 14 | 310 | 35,0 | 16 | 340 | 34,5 | 15,6 |
| 251 | 35,0 | 16,1 | 281 | 34,6 | 15,9 | 311 | 34,5 | 15,6 | 341 | 34,4 | 15,8 |
| 252 | 35,0 | 16,1 | 282 | 33,9 | 14,9 | 312 | 35,0 | 16 | 342 | 34,4 | 15,2 |
| 253 | 34,0 | 15,5 | 283 | 33,7 | 14,2 | 313 | 34,8 | 15,9 | 343 | 34,4 | 15,5 |
| 254 | 35,0 | 16,1 | 284 | 34,0 | 15,5 | 314 | 34,5 | 15,6 | 344 | 34,5 | 15,6 |
| 255 | 34,6 | 15,6 | 285 | 34,0 | 15,5 | 315 | 34,8 | 15,9 | 345 | 34,5 | 15,6 |
| 256 | 34,5 | 15,6 | 286 | 34,0 | 15,5 | 316 | 35,6 | 16,7 | 346 | 34,5 | 15,6 |
| 257 | 34,2 | 15,4 | 287 | 34,0 | 15,5 | 317 | 35,3 | 16,4 | 347 | 34,6 | 15,9 |
| 258 | 34,1 | 15,5 | 288 | 34,6 | 15,9 | 318 | 35,4 | 16,5 | 348 | 34,7 | 15,9 |
| 259 | 35,4 | 16,5 | 289 | 34,9 | 16 | 319 | 35,4 | 16,7 | 349 | 34,1 | 15,5 |
| 260 | 35,0 | 16,1 | 290 | 34,5 | 15,6 | 320 | 34,6 | 15,9 | 350 | 34,8 | 15,9 |
| 261 | 34,5 | 15,6 | 291 | 34,4 | 15,7 | 321 | 34,8 | 15,9 | 351 | 34,5 | 15,6 |
| 262 | 35,0 | 16,1 | 292 | 34,4 | 15,7 | 322 | 34,2 | 15,4 | 352 | 35,0 | 16 |
| 263 | 34,8 | 15,9 | 293 | 34,4 | 15,3 | 323 | 34,1 | 15,5 | 353 | 35,0 | 16 |
| 264 | 34,5 | 15,6 | 294 | 34,5 | 15,6 | 324 | 35,1 | 16,2 | 354 | 35,0 | 16 |
| 265 | 34,8 | 15,9 | 295 | 34,5 | 15,6 | 325 | 35,6 | 16,7 | 355 | 35,0 | 16 |
| 266 | 35,6 | 16,7 | 296 | 34,5 | 15,6 | 326 | 35,4 | 16,7 | 356 | 35,0 | 16 |
| 267 | 35,3 | 16,4 | 297 | 34,6 | 15,9 | 327 | 35,5 | 16,8 | 357 | 35,0 | 16 |
| 268 | 35,4 | 16,5 | 298 | 34,7 | 15,9 | 328 | 35,5 | 16,8 | 358 | 35,0 | 16 |
| 269 | 35,4 | 16,5 | 299 | 34,1 | 15,5 | 329 | 35,7 | 16,9 | 359 | 35,5 | 16,8 |
| 270 | 34,6 | 15,6 | 300 | 34,8 | 15,9 | 330 | 33,8 | 14,5 | 360 | 35,4 | 16,5 |
| Promedio. | Peso: 34,73 | Talla 15,87 | Desviación Estándar. | | | Peso: 0,496729 | Talla: 0,528597 | | | | |

Anexo O. Análisis de cromatografía para la determinación de insecticidas organofosforados y carbamatos inhibidores de colinesterasa método de lovibond.

Para la determinación de la cantidad del insecticida Carbofurán en el agua de la quebrada casabamba donde se encuentra la bocatoma de la estación de Guairapungo, se realizó un ensayo de cromatografía con el método de lovibond el cual se atribuye al siguiente protocolo:

- **Materiales y equipos.**

Disco comparador de rango 0 - 100% con celdas.

Micropipeta de volumen variable de 50 microlitros.

Pipeta graduada de 2 ml.

Beakers de 50 ml.

Balón volumétrico de 100 ml.

Balanza analítica.

Espátula.

Tubos de ensayo.

Jeringa de 2 cc.

Gradilla de tubos con termómetro de ambiente.

- **Reactivos.**

Solución indicadora: sal sódica de azul de bromotimol 0,112 gramos en 250 mL de agua destilada libre de CO₂.

Solución sustrato: Preclorado de acetilcolina 0,5 ± 0,2 gramos, se disuelven en 100 mL de agua destilada libre de CO₂.

- **Procedimiento.**

Preparación de la muestra: la muestra de agua a analizar se la tomó en un frasco de vidrio y se refrigeró inmediatamente hasta congelarse, el tiempo de la toma de la muestra del agua y la llegada hasta el laboratorio no debió pasar de las 12 horas para evitar pérdida del insecticida.

Prueba de reactivos: se mezcló 0,5 mL de solución indicadora, 10 microlitros de agua del tratamiento T0 y 0,5 mL de solución de cada tratamiento. Se mezcló bien y se transfirió la mezcla a la celda de comparador. Se colocó el comparador contra una fuente de luz blanca uniforme y se rotó el disco hasta que los colores coincidan (el del disco con la solución); la lectura realizada se encuentra desde el 0% y 12,5%. La lectura obtenida y la temperatura leída determinó el tiempo de reacción de la acetilcolinesterasa.

- **Determinación.**

Se mezcló en un tubo de ensayo 5 mL de agua del tratamiento T0 con 50mL de agua del tratamiento T1 (esto se hace con cada uno de los tratamientos). Se preparó el blanco mezclando 50mL de agua destilada libre de CO2 con 50mL de agua del tratamiento T0. Se preparó un positivo mezclando 50mL de agua destilada libre de CO2 contaminada con insecticida inhibidor de colinesterasa, con 50mL de agua libre del insecticida (tratamiento T0). Se marcó los tubos de ensayo y se adicionó para cada uno 0,5 mL de solución indicadora, 20 mL de muestra (con cada tratamiento), blanco y positivo respectivamente, se mezcló y se adicionó 0,5 mL de solución de sustrato en intervalos de un minuto, se tapó y se mezcló cada tubo. Posteriormente se dejó en reposo durante 10 minutos, una vez cumplió el tiempo, se mezcló suavemente y se transfirió el contenido de cada tubo en las celdas; también se debe colocar el tubo con la solución blanco y el positivo de la muestra. Y se realizó la lectura mirando la coincidencia del color de la muestra con el disco.

- **Interpretación de resultados**

Positivo para insecticidas inhibidores de colinesterasa, valores inferiores al 62,5 %. Sospechoso para insecticidas inhibidores de colinesterasa, valores iguales al 62,5% y negativo para insecticidas inhibidores de colinesterasa con valores iguales o mayores al 75%.