



**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL MALATHION EN ALEVINOS  
DE TILÁPIA NILÓTICA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) EN AUSENCIA Y  
PRESENCIA DE SEDIMENTO Y ANÁLISIS DE RESIDUO POR  
CROMATOGRFÍA GASEOSA**

**YEMALL ALEXANDER MAIGUAL ENRÍQUEZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS  
PROGRAMA DE INGENIERIA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA  
PASTO - COLOMBIA  
2007**

**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DEL MALATHION EN ALEVINOS  
DE TILÁPIA NILÓTICA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) EN AUSENCIA Y  
PRESENCIA DE SEDIMENTO Y ANÁLISIS DE RESIDUO POR  
CROMATOGRFÍA GASEOSA**

**YEMALL ALEXANDER MAIGUAL ENRÍQUEZ**

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

**M.Sc. JUAN JOSÉ LOZADA CASTRO  
Presidente**

**Ph.D JOAQUIM GONÇALVES MACHADO NETO  
Copresidente**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS  
PROGRAMA DE INGENIERIA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA  
PASTO - COLOMBIA  
2007**

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

Artículo 1<sup>ero</sup> 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  
Presidente

---

JOAQUIM GONÇALVES MACHADO NETO  
Copresidente

---

WILMER RENE SANGUINO ORTÍZ  
Jurado delegado

---

JUAN ANDRÉS SOLARTE  
Jurado

San Juan de Pasto, Febrero de 2007

DEDICO A:

A mis padres Carlos Julio y Nancy Deyanira por haberme brindado su valioso apoyo y lo más importante la oportunidad de realizar mis estudios superiores y haberme permitido terminar exitosamente con el desarrollo de este documento fuera del país y conocer una nueva cultura; a mis hermanas Claudia Andrea, Ruby Susana y Paola Fernanda por su ayuda incondicional; a mis sobrinos Gianfranco y Ruby por ser mi nueva generación; a mis amigos de la Universidad de Nariño por haber compartido el tiempo de estudios junto a los estudiantes del Centro de Acuicultura de la Universidad Estatal Paulista, Daniele y Bruno Duó que ayudaron durante la ejecución de mi trabajo y la crítica constructiva y análisis del mismo y especialmente a un amigo que por cosas del destino ya no esta acompañándome más pero que siempre lo llevare en mi corazón RTT.

**YEMALL ALEXANDER MAIGUAL ENRÍQUEZ**

“La ignorancia afirma o niega rotundamente, la ciencia duda”

Voltaire

“El peligro radica en que nuestro poder para dañar el ambiente o al prójimo, aumenta a mayor velocidad que nuestra sabiduría en el uso del poder”

Stephen William Hawking

## AGRADECIMIENTOS

Expreso mis sinceros agradecimientos a:

Juan José Lozada Castro	Químico., M.Sc. Docente UDENAR
Joaquim Gonçalves Machado Neto	Ing Agrónomo., M.Sc, Ph.D. Docente UNESP
Daniele Avilés Duó	Bióloga SAÕ LUIS
Bruno Baptista Duó	Pasante Laborseg. UNESP
Claudinei Cruz	Biólogo., M.Sc., Ph.D., UNESP
Jair Sebastião Pinto	Ing., Químico, M.Sc., Ph.D. USP
Wilmer Rene Sanguino Ortíz	Ing. Prod. Acuícola., UDENAR
Juan Andrés Solarte	Ing Químico., UNAL
Carlos Solarte Portilla	Zoot., M.Sc., Ph.D. Docente UDENAR
Camilo Lenín Guerrero	Estudiante Ing. Prod. Acuícola
Camilo Ernesto Guerrero	Doctorando CAUNESP
Elissandra Ulbricht Winkaler	Doctoranda CAUNESP
Luis Arauco Romero	Doctorando CAUNESP
Jairo Muñoz Hoyos	Rector UDENAR
Javier Fajardo Acosta	Representante Estudiantil
Piedad Mejía	Secretaria Ing. Producción Acuícola
Oscar Iván Mejía	Economista
Marco Antonio Imuez	Docente Ing. Producción Acuícola

Y a todas las personas que colaboraron y contribuyeron incondicionalmente para el desarrollo exitoso de mi trabajo de graduación.

## CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	21
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	23
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	24
3. OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4. MARCO REFERENCIAL	26
4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	26
4.2 TILÁPIA EN EL SIGLO XXI	26
4.2.1 La tilápia nilótica	27
4.3 ESTRÉS EN LOS PECES	28
4.4 TOXICOLOGÍA ACUÁTICA	29
4.4.1 Prueba de toxicidad aguda	30
4.4.2 Desarrollo de la prueba de toxicidad aguda	31
4.4.3 Evaluación, interpretación y divulgación de los resultados	31
4.4.4 Peces como organismos – prueba	31
4.4.5 Pruebas de toxicidad con sedimento	32
4.4.6 Prueba de sensibilidad	33
4.5 CROMATOGRAFÍA GASEOSA	33
4.5.1 Método del patrón externo	34



	Pág.	
4.5.2	Detector termoiónico específico	34
4.6	POLUCIÓN DEL AGUA	35
4.6.1	Clasificación de los poluentes	36
4.7	PESTICIDAS	36
4.7.1	Clasificación de los pesticidas	36
4.7.2	Presencia de pesticidas en los cuerpos de agua	37
4.7.3	Pesticidas organofosforados y su efecto sobre la Acetilcolinesterasa (AChE)	37
5.	DISEÑO METODOLÓGICO	41
5.1	LOCALIZACIÓN	41
5.2	INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES	41
5.2.1	Equipos y materiales	41
5.2.2	Productos químicos	42
5.3	MATERIAL BIOLÓGICO	43
5.4	PLAN DE MANEJO	43
5.4.1	Sala	43
5.4.2	Agua	43
5.4.3	Acuarios	44
5.4.4	Peces	44
5.4.5	Sedimento	44
5.5	COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CLASE TEXTURAL DEL SEDIMENTO	45
5.6	PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PATRÓN Y PRUEBA	45

	Pág.	
5.7	TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS	46
5.8	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL MALATHION	46
5.8.1	Repetibilidad de inyecciones cromatográficas de malathion	47
5.8.2	Límite de detección	48
5.8.3	Límite de cuantificación	48
5.8.4	Curva de calibración de malathion	48
5.8.5	Recuperación de malathion empleando extracción Líquido - Líquido (LLE)	48
5.8.6	Límite de confianza para el tiempo de retención	49
5.9	TRATAMIENTOS	49
5.10	DISEÑO EXPERIMENTAL	49
5.11	VARIABLES EVALUADAS	49
5.11.1	CL50	50
5.11.2	Porcentaje de mortalidad	50
5.11.3	Residuo del malathion en el agua	50
6.	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
6.1	COMPOSICIÓN QUÍMICA Y TEXTURAL DEL SEDIMENTO	51
6.2	CALCULO DE LA CL50 –96 HORAS	51
6.2.1	Mortalidad, ecuaciones lineales y $R^2$	51
6.3	RESIDUO DE MALATHION EN EL AGUA	63
6.3.1	Repetibilidad de inyecciones cromatográficas de malathion	63
6.3.2	Cálculo del límite de detección y cuantificación	63

	Pág.	
6.3.3	Elaboración de la curva de calibración del malathion	63
6.3.4	Cálculo del porcentaje de recuperación de malathion	64
6.3.5	Límite de confianza para el tiempo de retención	65
6.3.6	Correlación entre las variables estudiadas	69
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	71
7.1	CONCLUSIONES	71
7.2	RECOMENDACIONES	72
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
	ANEXOS	80

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Principales especies de tilápias cultivadas en el mundo en miles de tm.	27
Tabla 2. Agentes estresantes de importancia ictiológica.	28
Tabla 3. Clasificación de los poluentes.	36
Tabla 4. Clasificación de los tóxicos.	37
Tabla 5. Análisis químico y granulométrico del sedimento.	51
Tabla 6. Parámetros físico-químicos del agua de pozo.	51
Tabla 7. Mortalidad del malathion a las 0 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en ausencia de sedimento.	52
Tabla 8. Mortalidad del malathion a las 12 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en ausencia de sedimento.	53
Tabla 9. Mortalidad del malathion a las 24 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en ausencia de sedimento.	54
Tabla 10. Mortalidad del malathion a las 0 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en presencia de sedimento.	55
Tabla 11. Mortalidad del malathion a las 12 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en presencia de sedimento.	56
Tabla 12. Mortalidad del malathion a las 24 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en presencia de sedimento.	57
Tabla 13. CL50 calculadas en <i>Oreochromis niloticus</i> para el malathion.	57
Tabla 14. Promedios de los parámetros físico-químicos del agua para cada prueba toxicológica.	58
Tabla 15. Toxicidad aguda de dos pesticidas en diferentes especies de <i>Daphnias</i> .	59
Tabla 16. CL50 de diferentes insecticidas organofosforados y productos	

	Pág.
de su oxidación en killifish, <i>Oryzias latipes</i> .	61
Tabla 17. CE50 para diferentes especies de invertebrados.	61
Tabla 18. Áreas de solución patrón de 1 ppm.	63
Tabla 19. Recuperación de malathion en solución acuosa.	65
Tabla 20. Evaluación de alternativas de adsorción de plaguicidas.	68
Tabla 21. Degradación del malathion bajo diferentes pH y condiciones de agua.	69

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ejemplar de <i>Oreochromis niloticus</i> .	26
Figura 2. Secuencia de respuestas biológicas de peces expuestos a agentes estresantes.	29
Figura 3. Diferentes tipos de adsorción sobre una partícula de suelo.	33
Figura 4. Esquema general de un cromatógrafo a gas.	34
Figura 5. Esquema de un detector termoiónico específico (TSD).	35
Figura 6. Movimiento de los agrotóxicos en ecosistemas acuáticos.	37
Figura 7. Representación de la sinapsis nerviosa.	38
Figura 8. Intoxicación causada por la acumulación de acetilcolina (ACh) e inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE).	39
Figura 9. Mecanismo de acción del malathion sobre la AChE.	40
Figura 10. Materiales y equipos utilizados en los ensayos.	42
Figura 11. Alevino de tilapia nilótica.	43
Figura 12. Sedimento empleado para las pruebas de toxicidad aguda.	45
Figura 13. Metodología para extracción de muestras cromatográficas.	46
Figura 14. Componentes del cromatógrafo de gases Varian 3800.	47
Figura 15. Relación concentración/efecto del malathion a las 0 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en ausencia de sedimento.	52
Figura 16. Relación concentración/efecto del malathion a las 12 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en ausencia de sedimento.	53
Figura 17. Relación concentración/efecto del malathion a las 24 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en ausencia de sedimento.	54

	Pág.
Figura 18. Relación concentración/efecto del malathion a las 0 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en presencia de sedimento.	55
Figura 19. Relación concentración/efecto del malathion a las 12 horas en alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en presencia de sedimento.	56
Figura 20. Relación concentración/efecto del malathion a las 24 horas en Alevinos de <i>Oreochromis niloticus</i> en presencia de sedimento.	57
Figura 21. Diferencias porcentuales en las CL50 calculadas.	59
Figura 22. Curva de calibración de malathion.	64
Figura 23. Cromatograma de solución malathion 4 ppm.	64
Figura 24. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 12 horas sin sedimento.	66
Figura 25. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 24 horas sin sedimento.	66
Figura 26. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 12 horas con sedimento.	67
Figura 27. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 24 horas con sedimento.	67
Figura 28. Diferentes vías de degradación del malathion.	70

## LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Muestreo para determinar peso y talla promedio de tilapia nilótica <i>Oreochromis niloticus</i> .	81
ANEXO B. Reportes electrónicos del programa “Trimmed Spearman Karber” para calculo de la CL50.	82
ANEXO C. Parámetros físico químicos del agua utilizada para los bioensayos.	85
ANEXO D. Prueba de sensibilidad en alevinos de tilapia nilótica ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) con dicromato de potasio - 1 mg/ml.	97
ANEXO E. Observaciones clínicas y de comportamiento de los bioensayos.	98
ANEXO F. Inyecciones de las muestras de malathion para cálculos de límites de detección y cuantificación.	104
ANEXO G. Inyecciones de las muestras de malathion de los ensayos de 12 y 24 horas.	105
ANEXO H. Correlación de la variable concentración final Vs pH, oxígeno disuelto y temperatura.	107



## GLOSARIO

**Absorción:** Fenómeno físico y/o químico en el cual un material retiene a otro o una sustancia es incorporada a un organismo vivo.

**ACTH:** Adreno Corticotropic Hormone (Hormona Adreno Corticotropa).

**Alícuota:** Fracción representativa de una cantidad mayor o del total de una masa definida.

**Bioacumulación:** Es un fenómeno, bien como el proceso en que ciertos isótopos, elementos que están presentes en los organismos (o son ingeridos) en concentraciones más altas que en un determinado compartimento del medio ambiente, incluyendo también al alimento.

**Biodegradable:** Producto que no es desechado sino destruido por bacterias o agentes biológicos produciendo sustancias químicas estables.

**Bioensayo:** Ensayo realizado en un laboratorio en condiciones estándar, que utiliza organismos vivos o partes de ellos para evaluar, por ejemplo, la toxicidad de aguas servidas, efluentes industriales o de sustancias químicas.

**Concentración letal:** Concentración de poluente o tóxico, que causa la muerte de un ser vivo cualquier.

**Cromatograma:** Gráfica u otro tipo de presentación de la respuesta de un detector, la concentración del analito en el efluente u otra magnitud usada como medida de concentración en el efluente, frente al volumen del efluente o tiempo.

**ECD:** Electrons Capture Detector (Detector de Captura de Electrones).

**Emulsión:** Mezcla líquida heterogénea de dos o más fases, mantenidas en suspensión estable una en la otra, por fuerte agitación o por emulsionantes que cambian la tensión superficial.

**FID:** Flame Ionization Detector (Detector de Ionización de Llama).

**Genotóxico:** Agente tóxico que va a determinar algún tipo de alteración en el material genético.

**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía líquida de alta resolución).

**Impacto ambiental:** Cualquier alteración de las propiedades físicas, químicas y biológicas del medio ambiente, causada por cualquier forma de materia o energía resultante de las actividades humanas.

**Materia orgánica:** Sustancia de origen animal, vegetal o sintético que posee una estructura básicamente carbónica.

**Pláncton:** Conjunto de seres vivos, animales o vegetales, que viven en suspensión en un cuerpo de agua comúnmente microscópicos.

**Sistema estático:** Método caracterizado por que la muestra no es cambiada e los organismos-prueba permanecen expuestos a las mismas soluciones-prueba durante el periodo del ensayo.

**TSD:** Thermionic Specific Detector. (Detector Termiónico Específico)

**Toxicidad:** Capacidad de una sustancia o mezcla de sustancias químicas para provocar un efecto nocivo en un organismo también llamado daño que es producido en respuesta a una dosis.

**Tóxico:** Sustancia que, absorbida por un organismo, produce desde disturbios simples hasta la muerte.

**VCM:** Volumen Corpuscular Medio

**Xenobiótico:** Compuesto químico que es ajeno o externo a un organismo vivo que interacciona con él, generalmente a través de alteraciones metabólicas.

## RESUMEN

La contaminación accidental o deliberada de estanques por la utilización de insecticidas organofosforados (OF) como el malathion, inhibiendo la enzima del sistema nervioso acetilcolinesterasa, siendo un problema potencial que puede impedir el desarrollo de la acuicultura en los países tropicales. El presente estudio fue llevado a cabo con el objetivo de determinar la toxicidad aguda (CL50-96 h) del producto insecticida malathion 500 CE en alevinos de tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* ( $1,24 \pm 0,63$  g;  $3,10 \pm 0,90$  cm) y la cantidad de residuo del mismo producto en el agua después de 12 y 24 horas de contacto con el sedimento, momento durante el cual no se encontraban los peces en periodo de exposición, bajo dos sistemas diferentes: en ausencia y presencia de sedimento bajo condiciones de laboratorio en el Centro de Acuicultura de la UNESP- Jaboticabal-São Paulo –Brasil.

Es de importancia resaltar que la presencia de sólidos suspendidos como la materia orgánica, no influyó en los decesos de los organismos en exposición porque no se presentó mortalidad en los tratamientos que sirvieron como grupos de control. Las diferentes CL50-96 horas calculadas para el organofosforado malathion fueron para los ensayos sin sedimento de  $0,2742 \text{ mg l}^{-1}$ ,  $0,5695 \text{ mg l}^{-1}$  y  $0,8381 \text{ mg l}^{-1}$ ; para los ensayos con sedimento:  $0,3462 \text{ mg l}^{-1}$ ,  $0,6087 \text{ mg l}^{-1}$  y  $0,9821 \text{ mg l}^{-1}$ , después de 0 – 12 y 24 horas de contacto del producto con el agua respectivamente, evidenciando que la cantidad que se debe utilizar con el correr del tiempo debe ser mayor para producir un mismo efecto, clasificando este producto como altamente tóxico para *Oreochromis niloticus*. Por tanto, el tóxico puede tener adsorción creciente debido a que el sedimento actúa como catalizador después del contacto con el sedimento a medida que transcurre el tiempo y más aun si los organismos en estudio son expuestos en diferentes periodos, obteniéndose una mayor CL50-96 horas como resultado de la menor biodisponibilidad del producto en los cuerpos de agua.

Dentro de las alteraciones en el comportamiento de los animales se presentó convulsiones, hiperactividad, pérdida del eje de nado, excesiva producción de mucus, decoloración, hemorragias en los bordes de las branquias, finalmente parálisis y la muerte por asfixia.

Para determinar la reducción del malathion en los ensayos de 12 y 24 horas, en ausencia y presencia de sedimento se empleó cromatografía gaseosa (CG-TSD). Los valores de reducción promedio de malathion en el agua fueron para el ensayo de 12 horas: 81,3% ausencia y 68,8% en presencia de sedimento; para el ensayo de 24 horas: 75,8% en ausencia y 78,5% en presencia de sedimento.

## ABSTRACT

Accidental or deliberate contamination of ponds by widely utilized Organophosphorus (OP) insecticides such as malathion, inhibiting the nervous system enzyme acetylcholinesterase, is a potential problem for aquaculture in tropical countries. This study was carried out with the objective of determining the acute toxicity (LC50-96 h) of the insecticide malathion 500 EC in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings ( $1,24 \pm 0,63$  g;  $3,10 \pm 0,90$  cm) and the quantity of residual product in the water after 12 and 24 hours of contact with the sediment, moment during which were not the fish in period of exhibition in two different systems: absence and presence of sediment in laboratory conditions in Aquaculture Center of UNESP – Jaboticabal – Sao Paulo – Brazil.

It is important to stand out that the presence of suspended solids as the organic matter did not influence of the organisms dead in exhibition because it does not present mortality in the control groups. The different LC50-96 hours calculates for organophosphorus malathion were for without sediment test's of  $0,2742 \text{ mg l}^{-1}$ ,  $0,5695 \text{ mg l}^{-1}$  and  $0,8381 \text{ mg l}^{-1}$ ; for with sediment test's of:  $0,3462 \text{ mg l}^{-1}$ ,  $0,6087 \text{ mg l}^{-1}$  y  $0,9821 \text{ mg l}^{-1}$ , at 0 – 12 and 24 hours of exposition respectively, evidencing that the quantity that should be used with running of the time should be bigger to product oneself classified effects this product as highly toxic for *Oreochromis niloticus*. Therefore, the toxic can have growing adsorption because the sediment acts as catalyst after the contact with the sediment as it lapses the time and more even if the organisms in study are exposed in different periods, being obtained a bigger LC50-96 hours as a result of the smallest bioavailability in the product in the water bodies.

Some of the alterations in the behavior of the animals were convulsions, hyperactivity, turning around their axis, excessive mucus production, fading, hemorrhages at level of the gills borders, finally paralysis and the death for asphyxia.

To determine the reduction of the malathion in the 12 y 24 hours test, in absence and presence of sediment was used gas chromatography (GC-TSD). The reduction values average of malathion in the water for the 12 hours test: 81,3% without and 68,8% with sediment; for 24 hours test: 75,8% without and 78,5% with sediment.

## INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia evolutiva, los peces tuvieron cerca de 300 millones de años para desarrollar un infinito conjunto de adaptaciones, a fin de poder mantener su equilibrio orgánico en la interacción con esos ambientes. Hoy en los ambientes naturales como en los artificiales, los peces vienen siendo expuestos a condiciones ambientales y orgánicas cada vez más desafiantes desde el punto de vista biológico. Tales condiciones tienen efectos negativos en la salud, crecimiento, reproducción y sobrevivencia de esos animales y puede resultar en cambios poblacionales.

Los organismos vivos responderán de forma integral con reacciones específicas a todas las intervenciones y perturbaciones directas o indirectas causadas por las sustancias nocivas, pudiendo así evaluar el riesgo ecotoxicológico que esta presenta para animales y el hombre.

Para Valenti et al<sup>1</sup>, todas las actividades acuícolas son dependientes del medio ambiente, los ecosistemas donde esta actividad agropecuaria de gran importancia que es desarrollada en muchos países, siendo los países subdesarrollados los que más la practican.

Considerando que la practica de la acuicultura no es posible sin la existencia de agua, como también con una fuente de agua poluida, sea fluvial, lacustre o marina, se torna imposible cualquier emprendimiento de cultivo de organismos con potencial acuícola<sup>2</sup>.

Los insecticidas organofosforados han sido utilizados en la acuicultura, sin restricciones para el control de odonatas, copépodos, monogenéticos ergasilidiosis, lerneoses y argulideos y la aplicación de ellos, puede provocar efectos tóxicos agudos en los peces y resultar en altos riesgos de intoxicación<sup>3 4 5</sup>.

---

<sup>1</sup> VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A. e BORGHETTI, J. R. Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPQ / Ministério da Ciência e tecnologia. 2000. p. 24

<sup>2</sup> VINATEA-ARANA, L. A. Princípios químicos de qualidade da água em Aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões. Florianópolis: Editora UFSC, 2004. p. 173

<sup>3</sup> NOGA, E. J. Fish disease: diagnosis and treatment. St. Louis, Mosby: North Carolina State University, College of Veterinary Medicine, 1996. p. 163

<sup>4</sup> PAVANELLI, C.; EIRAS, J e TAKEMOTO, R. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá: EDUEM. 1998. p. 264

<sup>5</sup> RODRIGUES, E.D.L.; RANZANI-PAIVA, M.J.; PACHECO, F.J e VEIGA, M.L. Efeito agudo do organofosforado Dipterex 500 (Trichlorfon) em baço de curimatá *Prochilodus scrofa* (STEINDACHNER, 1881). Pirassununga: B. CEPTA. No. 24, (1997). p. 198-199

El uso de las pruebas de toxicidad permite evaluar el potencial deletéreo que algunos químicos pueden ejercer sobre la bióta acuática, sobre condiciones controladas de laboratorio<sup>6</sup>.

El monitoreo de los residuos de agrotóxicos en los suelos y en aguas se viene tornando imprescindible para a reducción del impacto ambiental, siendo realizado por la determinación y cuantificación de esos mismos residuos<sup>7</sup>.

Mediante la utilización del programa estadístico “Trimmed Spearman-Karber” se buscará probar que la presencia de sedimento ayuda a que la cantidad de malathion que se utilizara para conseguir una mortalidad de por lo menos el 50% de los organismos es mayor a la cantidad utilizada en un sistema sin sedimento verificando su trabajo como un filtro para pesticidas.

---

<sup>6</sup> RAND, G. M and PETROCELLI, S. R. Fundamentals of aquatic toxicology. Washington: Publishing Hemisphere, 1985. p. 25

<sup>7</sup> KOVAI, N.; PROSEN, H and ZUPANI-KRALJ, L. Determination of triazines and atrazine metabolites in soil by microwave assisted solvent extraction and high pressure liquid chromatography with photo-diode-array detection. *Acta Chim. Slov.* Vol. 51, (2004). p. 398-400

## 1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Considerando el uso indiscriminado de los agrotóxicos, la contaminación accidental o deliberada en los cuerpos de agua (ríos, lagunas, lagos, etc.) que pueden utilizarse en la producción acuícola, a través de la utilización de productos como el malathion, empleado en estanques para acuicultura en la región tropical para eliminación de ectoparásitos como también para control de vectores de enfermedades en humanos como el dengue, y otras pestes, también siendo utilizado para la fumigación de cultivos ilícitos, entre otras actividades. Su uso frecuente representa un gran problema para el desarrollo de la actividad acuícola intensiva en los países dentro de esta zona.

Además, la falta de información de estudios de esta índole hace todavía difícil pero necesario el desarrollo de pruebas para la obtención de datos, para evaluar el nivel al cual pueden estar expuestos los ecosistemas acuáticos con estos productos. También es importante conocer la efectividad del sedimento como reductor de disponibilidad de sustancias químicas nocivas para mantener el equilibrio dinámico del agua, sin que los organismos se vean afectados.

Al ser estos productos tóxicos en el agua, actuando como inhibidores de las enzimas que controlan la fisiología normal del organismo, impidiendo su normal crecimiento y reproducción, como la acetilcolinesterasa, que regula la transmisión de los impulsos eléctricos del cerebro a los diferentes órganos del animal, siendo los primeros estadios (ovas, larvas, alevinos), los más sensibles a la presencia de poluentes, por su incompleto desarrollo de los sistemas para la desintoxicación por tanto se puede considerar a ellos como organismos aptos para su utilización en pruebas toxicológicas.

La tilapia nilótica es un organismo ideal para ser utilizado en bioensayos de toxicidad por ser una especie rústica, precoz y criada en cuerpos de agua con aportes de agentes tóxicos utilizados en la actividad agropecuaria.

La importancia de este trabajo fue obtener la variación en la cantidad de tóxico para obtener la muerte de por lo menos el 50% de los organismos en exposición y su comportamiento con la utilización de sedimento como agente adsorbente de pesticidas bajo condiciones de laboratorio obteniéndose con mayor margen de seguridad en la estimativa de las concentraciones aceptables del agente tóxico en el sistema acuático y así mismo una producción sin inconvenientes.

## 2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Debido a la escasa información que se encuentra en trabajos elaborados en sistemas sin sedimento y con sedimento para especies acuícolas es necesario investigar el efecto de este a través de ensayos de toxicidad aguda. Entonces se plantea el siguiente problema:

¿Cuál es la variación de la CL50 del malathion a diferentes tiempos de exposición para alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en agua con ausencia y presencia de sedimento?



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la variación de la CL50 del malathion a diferentes tiempos de exposición utilizando alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en acuarios en ausencia y presencia de sedimento.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Implementar un sistema que simule las condiciones medioambientales para obtener una estimativa real del nivel de toxicidad del malathion en *Oreochromis niloticus*.
- Calcular los porcentajes de mortalidad para la obtención de la CL50-96 horas del malathion a las 0, 12 y 24 horas de exposición en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) en ausencia y presencia de sedimento.
- Determinar la composición química y clase textural del sedimento utilizado en los ensayos con tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*).
- Evaluar la cantidad de residuo de malathion presente en el agua después de 12 y 24 horas con técnicas de cromatografía gaseosa.
- Establecer la correlación concentración final Vs pH del sistema, en la degradación del organofosforado malathion.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino	:	Animalia
Phylum	:	Chordata
Subphylum	:	Vertebrata
Clase	:	Teleostomi
Orden	:	Perciformes
Familia	:	Cichlidae
Género	:	Oreochromis
Especie:	:	<i>Oreochromis niloticus</i> (Linnaeus, 1758)
Nombre común	:	Tilápia nilótica, mojarra plateada

TREWAVAS, G. Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. *British Mu. Nat. Hist.* London, UK. 1983. p. 583

Figura 1. Ejemplar de *Oreochromis niloticus*.



### 4.2 TILÁPIA EN EL SIGLO XXI

Para Fitzsimmons<sup>8</sup>, la tilápia será el pez más importante en la acuicultura del siglo XXI. Las características de su fisiología, biología reproductiva, plasticidad genética, desarrollo de líneas domesticas y su facilidad de comercialización, la sitúan en el primer plano de la acuicultura, presentando en Brasil uno de los crecimientos más rápidos en la industria de ella en toda América. Zimmermann y

<sup>8</sup> FITZSIMMONS, K. Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. In: COSTA-PIERCE, B e RAKOCK, J. Tilapia aquaculture in the Americas. *World Aquaculture Society*. Vol. 2, (2000) p. 253

Fitzsimmons<sup>9</sup> indican que la tilápia desde el año de 1995 es el género de peces más producido en Brasil, con una producción anual de 75 mil toneladas hacia el año 2002.

Su cultivo puede ser bajo diferentes niveles y sistemas de producción como también en diferentes ambientes acuáticos (agua dulce, salobre y salada). Sea cual fuese el sistema, el ambiente, la intensidad para el cultivo de tilápia o híbridos de esta, se sabe que esta especie íctica tolera calidades adversas de agua y otros factores que conducen al estrés, mucho mejor que otras especies comerciales de acuicultura.

**4.2.1 La tilápia nilótica.** De acuerdo con Kubitzza<sup>10</sup>, son conocidas alrededor del mundo más de 70 especies de tilápias, siendo la mayoría originarias de Africa. De ellas, apenas cuatro se destacan en el contexto mundial de la acuicultura, todas del género *Oreochromis*: tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*); tilápia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*); tilápia azul (*Oreochromis aureus*) y la tilápia de Zanzíbar (*Oreochromis urolepis hornorum*).

Nativa de diversos países africanos, la tilápia nilótica es la especie más cultivada del mundo (Tabla 1). Parece presentar una gran habilidad de filtrar las partículas del pláncton. Así, cuando es cultivada en estanques de aguas verdes, esta generalmente supera en crecimiento y conversión alimenticia a las demás especies de tilápias<sup>11</sup>.

Tabla 1. Principales especies de tilápias cultivadas en el mundo en miles de tm.

<b>Especie</b>	<b>1991-1995</b>	<b>1996-2000</b>	<b>2001-2002</b>
Tilápia nilótica	381,4	814,3	1.172,0
Tilápia nep	111,0	146,0	220,1
Tilápia mosambica	50,6	50,3	56,7
Tilápia andersonii	1,9	2,7	2,7
Tilápia aurea	2,7	1,6	1,2
Otras especies	1,0	1,4	1,4
<b>Total</b>	<b>548,6</b>	<b>1.016,3</b>	<b>1.454,1</b>

FAO, Fhostat. Citado por ALCESTE Y WURMANN. La tilápia: el nuevo gigante de la acuicultura mundial y su mercado en los Estados Unidos. En: Revista AQUA. No 90, (2004). p. 74

<sup>9</sup> ZIMMERMANN,S e FITZSIMMONS, K. Tópicos especiais em piscicultura de água doce intensiva. Em: Cyrino, J.; Urbinati, E; Fracalossi, D.; Castagnolli, N. 2004. p. 218

<sup>10</sup> KUBITZA, F. Tecnologia e planejamento na produção comercial de tilápia. Editor F. Kubitzza, 2000. p. 6

<sup>11</sup> Ibid., p. 7

### 4.3 ESTRÉS EN LOS PECES

El agente generador de estrés puede ser de origen químico, biológico y físico o estar relacionado con el manejo de los animales (Tabla 2), entonces los peces tienen la capacidad de ajustar los niveles de la organización biológica, como forma de minimizar los efectos orgánicos impuestos y mantener sus funciones.

Para Iwama, et al<sup>12</sup>, al percibir alteraciones ambientales o fisiológicas, el pez desencadena una serie de ajustes, iniciando normalmente con los cambios en el comportamiento. Las respuestas al agente causante de estrés pueden ser clasificadas en primarias, secundarias y terciarias, que en conjunto van desde respuestas de baja relevancia hasta respuestas de alta relevancia ecológica (Figura 2). Según Hontela et al<sup>13</sup>, la exposición a insecticidas de modo general, aumenta el nivel de cortisol en la sangre de peces. Esto puede indicar estrés tóxico, alterando la regulación de las funciones vitales, como la osmorregulación, metabolismo energético, reproducción y crecimiento.

Tabla 2. Agentes estresantes de importancia ictiológica.

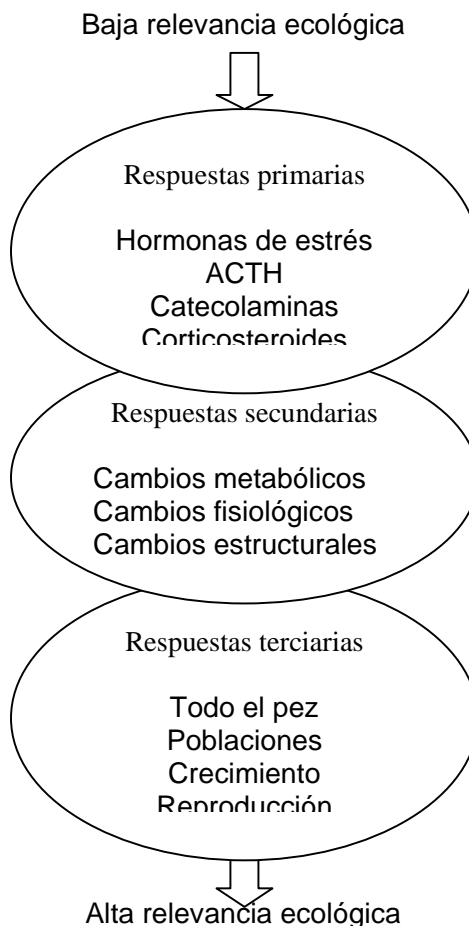
<b>Clases</b>	<b>Agentes estresante</b>
<b>Estresante químico</b>	Bajos niveles de oxígeno pH inapropiado Niveles de amonio y nitrito Presencia de metales pesados Presencia de As, Cl, cianuro y fenoles Insecticidas, herbicidas, fungicidas y exfoliantes Niveles de aniones y cationes
<b>Estresante biológico</b>	Dominancia, agresión, territorialismo, espacio físico Microorganismos patógenos y no patógenos Parásitos internos y externos Privación de alimentación
<b>Estresante físico</b>	Temperatura, luminosidad inapropiada y sonido Gases disueltos
<b>Estresante por manejo</b>	Confinamiento, transporte Tratamiento de enfermedades Densidades de siembra

VAL, L.; da SILVA e ALMEIDA -VAL, V. Estresse em peixes – Ajustes fisiológicos e distúrbios Orgânicos. Em: Ranzani-Paiva, M.; Takemoto, R.; Lizama, M. Sanidade dos organismos aquáticos. Editora Varela, 2004. p. 78

<sup>12</sup>IWAMA, G.; VIJAYAN, M and MORGAN, J. The stress response in fish. In: SAKSENA, D. Ichthyology. Recent research advances, enfield, USA: *Science publishers*, Inc. 1999. p. 48-49

<sup>13</sup>HONTELA, A.; DUMONT, P.; DUCLOS, D and FORTIN, R. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River. *Arch. Environmental Contamination and Toxicology*. New York. Vol.14, (1993). p. 726-727

Figura 2. Secuencia de respuestas biológicas de peces expuestos a agentes estresantes.



IWAMA, G.; VIJAYAN, M and MORGAN, J. Op. Cit, p. 49

#### 4.4 TOXICOLOGÍA ACUÁTICA

Para Rand y Petrocelli<sup>14</sup>, la toxicología acuática estudia los efectos de compuestos químicos y otros xenobióticos sobre los organismos acuáticos con énfasis especial en los efectos adversos o dañinos. Innumerables pruebas toxicológicas son utilizadas para evaluar las concentraciones y la duración de la exposición a estos agentes químicos necesarios para producir un efecto predeterminado, o sea, una prueba toxicológica es desarrollada para mensurar el grado de respuesta producida por un nivel específico de estímulo – concentración del compuesto en estudio.

<sup>14</sup> RAND, G. M. and PETROCELLI, S. R. Op. cit, p. 26

Se puede considerar que los efectos tóxicos pueden incluir tanto la letalidad (mortalidad) y efectos subletales, como alteraciones en el crecimiento, desarrollo, reproducción, respuestas farmacocinéticas, patología, bioquímica, fisiología y comportamiento. Estos pueden ser expresados a través de criterios mensurables como el número de organismos muertos, porcentaje de huevos anormales, alteraciones en el tamaño y peso, porcentaje de inhibición de la enzima, incidencia de tumor, entre otros. La toxicología acuática también está relacionada con las concentraciones o cantidades de los agentes químicos que pueden caer en el ambiente acuático (agua, sedimento o alimento). La toxicidad de un compuesto químico depende de la exposición, de la susceptibilidad del organismo, de las características químicas del agente y de factores ambientales<sup>15</sup>.

Según Ranque-Ribiya et al, citado por Kime<sup>16</sup>, con la presencia de contaminantes aparecen serios problemas a los ecosistemas acuáticos, daños fisiológicos letales y efectos bioquímicos en los habitantes y su desarrollo.

**4.4.1 Prueba de toxicidad aguda.** Las pruebas fortalecen informaciones e indicaciones sobre posibles riesgos y alteraciones perjudiciales al medio ambiente, sirviendo así, como sistemas preventivos de protección y alerta. Hoy, en el análisis ambiental, las pruebas son aplicadas como sistemas vivos de medición para a constatación de efectos<sup>17</sup>.

De acuerdo con Bertolotti<sup>18</sup>, los ensayos de toxicidad han sido utilizados en busca de más conocimiento sobre el potencial poluente de varios agentes químicos introducidos en los ecosistemas acuáticos. Entre ellos está la prueba de toxicidad aguda, que simula la situación ambiental en la cual el organismo es expuesto, durante un corto período de tiempo, a unas concentraciones de un agente tóxico.

De manera general, durante una prueba de toxicidad aguda además de la mortalidad o sobrevivencia de los organismos, también es recomendable evaluar alteraciones en el comportamiento (forma de natación, distribución en la columna de agua, paralización, letargia) y aspectos biométricos relativos a la ganancia de peso y crecimiento de los animales.

---

<sup>15</sup> Ibid., p. 26

<sup>16</sup> KIME, D. Endocrine disruption in fish. Kluwer academic publishers. 1998. p. 14

<sup>17</sup> KNIE, J. L & LOPES, W. E. 2004. Testes ecotoxicológicos métodos técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ. p. 19

<sup>18</sup> BERTOLETTI, E. Ensaios biológicos com organismos aquáticos a e sua ação no controle da poluição. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1990. p. 50

**4.4.2 Desarrollo de la prueba de toxicidad aguda.** Para Ramírez<sup>19</sup>, el empleo de pocas concentraciones repercute negativamente en los bioensayos pues mortalidades de 0 y 100 son a menudo evidentes en pruebas de toxicidad aguda con una duración de 96 horas de exposición, por tanto un buen diseño experimental para pruebas de toxicidad aguda resulta con cinco concentraciones y tres repeticiones simultaneas (una muestra y dos réplicas) en cada una de ellas.

Según Lombardi<sup>20</sup>, los ensayos deben ser realizados preferencialmente con las primeras fases del ciclo de vida de los organismos acuáticos (embriones, larvas, alevinos, neonatos, etc.). Esta preferencia se atribuye al hecho que las fases precoces presentarán más sensibilidad a las intoxicaciones en general, que las formas adultas. Esto da mayor margen de seguridad para las estimativas de concentraciones aceptables del agente tóxico en el medio acuático.

**4.4.3 Evaluación, interpretación y divulgación de los resultados.** También se indica que la ocurrencia de mortalidad debe ser registrada en intervalos de tiempo relacionados a la duración del experimento, generalmente cada 24 horas, o sea, considerar los intervalos de 24, 48, 72, 96 horas; sin embargo los estudios toxicológicos subsecuentes consideran apenas el valor de CL50, observados al final del período total de la prueba<sup>21</sup>.

Este valor puede ser estimado a través de análisis gráfica de la curva de mortalidad y/o, principalmente, a través de métodos estadísticos especialmente desarrollados para el cálculo de la CL50. Entre los varios métodos existentes, se destaca "Trimmed Spearman-Kärber" desarrollado por Hamilton et al<sup>22</sup>, "Probit" por Finney<sup>23</sup>. Es importante tener en cuenta que el grupo control no entra en la composición de los datos para el cálculo de las CL50, sirviendo como un parámetro más de validación, pues mortalidades encima de 10%, pueden invalidar los resultados obtenidos de la prueba, mas sin embargo, índices de hasta 20% de mortalidad todavía sea aceptado en algunos casos de ensayos preliminares.

**4.4.4 Peces como organismos – prueba.** Reynoldson y Day<sup>24</sup> afirman que estos organismos vienen siendo utilizados para pruebas de toxicidad de efluentes y son considerados organismos patrón para ensayos de toxicidad aguda, así como para toxicidad crónica. Pero, hasta el presente, los peces no han sido muy

---

<sup>19</sup> RAMÍREZ, A. Fundamentos cuantitativos para realizar ensayos biológicos y pruebas de toxicidad: Curso Regional de Entrenamientos INDERENA /PNUMA/PAC/FAO/COI sobre ensayos biológicos y pruebas de toxicidad en el Gran Caribe III. Cartagena. 1989.

<sup>20</sup> LOMBARDI, J. Toxicología acuática. Em: Sanidade dos organismos acuáticos. Ed. Varela. 2002. p. 267

<sup>21</sup> *Ibíd.*, p. 268-269

<sup>22</sup> HAMILTON, M. A; RUSSO, R and THRUSTON R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 12, No. 4, (1978). p. 417

<sup>23</sup> FINNEY, D. Y. Probit Analysis. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge: University Press. 1971. p. 138

<sup>24</sup> REYNOLDSON, T and DAY, K. Freshwater sediments. Blackwell Scientific Publication. Vol. 1, (1993). p. 82

utilizados en estos trabajos de toxicidad aguda y/o crónica con sedimento. La importancia de los peces de agua dulce en ecotoxicología es tanto ecológica cuanto económica. Los peces, en su mayoría, no viven en contacto directo con el sedimento, no teniendo al principio la misma importancia de invertebrados bentónicos en la evaluación de la toxicidad del sedimento.

No en tanto para Chapman et al<sup>25</sup>, los contaminantes presentes en los sedimentos pueden pasar para la columna de agua por la acción de factores físicos, químicos y biológicos, obviamente a los peces.

**4.4.5 Pruebas de toxicidad con sedimento.** El sedimento es un material particulado natural, orgánico o mineral, que puede ser transportado y depositado en el fondo de ecosistemas acuáticos. Una de sus funciones es servir como depósito para contaminantes del agua, fijando y removiendo especies químicas, encontrando elementos nocivos para el hombre y la naturaleza<sup>26</sup>. Algunas propiedades del agua puede afectar la tasa de absorción de las sustancias químicas como temperatura, pH, concentración de material en suspensión, dureza, alcalinidad, flujo, profundidad y tamaño de las partículas presentes en los compuestos químicos<sup>27</sup>. Los herbicidas como otros agrotóxicos pueden sufrir partición en la fase acuosa y el suelo<sup>28</sup>.

Una vez en el agua, dependiendo de las características físico-químicas el residuo del agrotóxico puede tanto ligarse al material particulado en suspensión (adsorción), depositarse en el sedimento del fondo o ser absorbido por organismos, pudiendo entonces ser desintoxicados o acumulados. Así se observa que hay una interacción continua de los agrotóxicos entre sedimento y agua, influenciada por el movimiento del agua, turbulencia y temperatura<sup>29</sup>. De esta interacción, puede resultar inclusive mayor tiempo de exposición de los organismos acuáticos a los compuestos tóxicos.

Muchos contaminantes son relativamente insolubles en agua y se añaden a partículas suspensas de materia orgánica, que generalmente se depositan en el sedimento<sup>30</sup>. Como consecuencia muchos sedimentos contienen mayor

---

<sup>25</sup> CHAPMAN, G.; CAIRNS, M.; KRAWCZYK, D.; MALUEG, K.; NEBEKER, A and SCHUYTEMA, G. Report on the toxicity and chemistry of sediment from Toronto and Toledo harbors. 1986. p. 123

<sup>26</sup> CIHACEK, L. J.; ANDERSON, W. L and BARAK, P. W. Linkages between soil quality and plant, animal and human health: Methods for assessing soil. Quality SSSA, USA. 1996. p. 31-32 (Special Publication).

<sup>27</sup> MURILLO, D. Testes de toxicidade para peixes. Em: Workshop sobre qualidade de água na aqüicultura 2000. p. 63 – 64

<sup>28</sup> JONSSON, C e MAIA, A. Toxicidade dos herbicidas Clomazone e Quinclorac para o invertebrado aquático *Daphnia similis* na presença e ausência de sedimento. *Pesticidas Rev. Ecotoxicol Meio Ambiente*, Curitiba. Vol. 9, (1999). p. 148-149

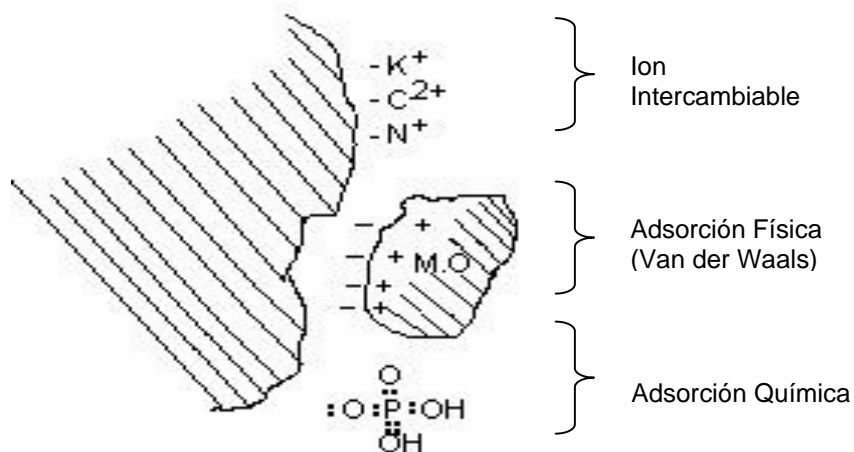
<sup>29</sup> NIMMO, D. R. Pesticides. In: RAND, G. M and PETROCELLI, S. R. (Ed.). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*, New York: *Hemisphere*, 1985. p. 335-337.

<sup>30</sup> CHARMICHAEL, W. W. Freshwater blue green algae, (cyanobacteria) toxins- A review. New York: Ed. Plenum Press. Vol. 1, (1981). p. 47



concentración de contaminantes que la propia agua. Entonces, Bornemisza asegura que cuando se agregan al suelo sustancias artificiales como los plaguicidas, influyen en ellas los mecanismos de atracción, esto implica que en los suelos con presencia de materia orgánica, con extensa superficie específica, la acción de estos es menor, siendo el fenómeno de adsorción de particular importancia en la inactivación de agrotóxicos (Figura 3) <sup>31</sup>.

Figura 3. Diferentes tipos de adsorción sobre una partícula de suelo.



**4.4.6 Prueba de sensibilidad.** La realización de prueba de sensibilidad es recomendada como método de evaluación de calidad de los plántulos de organismos cultivados. Son utilizadas sustancias de referencia como: dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), cloruro de potasio (KCl) y cloruro de sodio (NaCl), estos dos últimos son los más recomendados, ofrecen bajo riesgo de contaminación ambiental. Son de corta duración (24 horas) y deben ser repetidos con frecuencia, pues estos datos sirven para la composición de una carta de referencia, que puede constatar la existencia de un cierto patrón en la sensibilidad natural de los organismos, pues la acción tóxica solamente será atribuida a la sustancia – prueba<sup>32</sup>.

## 4.5 CROMATOGRAFÍA GASEOSA

La cromatografía gaseosa es un método analítico empleado en la separación de los componentes químicos estrechamente relacionados en mezclas complejas (Figura 4), además se emplea para la identificación cualitativa y determinación cuantitativa de especies separadas. Estos emplean una fase estacionaria y otra

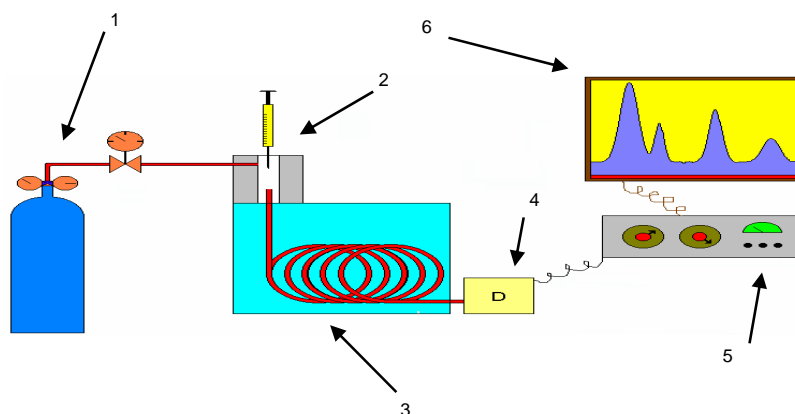
<sup>31</sup> BORNEMISZA, E. Introducción a la química de suelos. Secretaria General de la OEA. Washington D. C. 1982. p. 34-35

<sup>32</sup> LOMBARDI, J. Op. cit. p. 266-268

móvil. Los componentes de la mezcla son llevados a través de la fase estacionaria por el flujo de la fase móvil gaseosa o líquida. Las separaciones están basadas en las diferencias de la velocidad de migración entre los componentes de la muestra<sup>33 34</sup>.

**4.5.1 Método del patrón externo.** Es uno de los métodos que se utilizan para cuantificación en cromatografía de gases, en él se compara el área del pico del compuesto en la solución desconocida con las áreas de una serie de soluciones estándar que se han usado para formar una curva de calibración. En este método es indispensable inyectar siempre la misma cantidad de muestra para no afectar los resultados. Tiene como ventajas que es de menor costo y respuesta rápida, pero presenta problemas si la velocidad del flujo, condiciones de la columna cambian o si la cantidad de muestra inyectada no son constantes<sup>35</sup>.

Figura 4. Esquema general de un cromatógrafo a gas.



1 - Cilindro de gas y controles de vacío / presión; 2 - Inyector (vaporizador) de muestra; 3 - Columna cromatográfica y horno de la columna; 4 - Detector; 5 - Electrónica de tratamiento (amplificación) de señal y 6 - Registro de señal (registrador o PC).

**4.5.2 Detector termoiónico específico.** Selectivo para compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno (Figura 5). Su respuesta al átomo de fósforo es 10 veces mayor que un átomo de nitrógeno, y de  $10^4$  a  $10^6$  veces que el átomo de carbono, siendo un sistema particularmente útil para la detección y determinación de pesticidas organofosforados<sup>36 37</sup>.

<sup>33</sup> SKOOG, D.; WEST, D y HOLLER, F. Química analítica. 6<sup>ta</sup> ed. Mc GRAW-HILL. 1998. p. 490-491

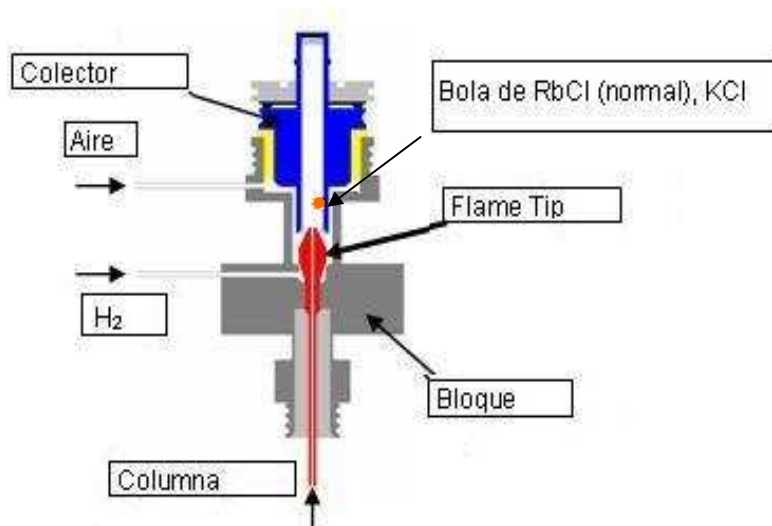
<sup>34</sup> KENNETH, R. Análisis instrumental. España: Pearson Educación, 2001. p. 199-201

<sup>35</sup> Ibid., p. 205-206

<sup>36</sup> MESTRES, R. El análisis de los residuos tóxicos, su interés y sus límites; ejemplos de residuos de pesticidas. En: toxicología y seguridad de los alimentos. Ed Omega. 1990. p. 97-98

<sup>37</sup> SKOOG, D y LEARY, J. Análisis instrumental. Ed. Mc GRAW-HILL. 1995. p. 712

Figura 5. Esquema de un detector termiónico específico (TSD).



El efluente de la columna es mezclado con  $H_2$  y  $O_2$ , luego es quemado. Como en una llama de  $H_2 + O_2$  no existen iones, el no conduce corriente eléctrica. Cuando un compuesto orgánico pasa, también es quemado. Debido a su incineración son formados una gran cantidad de iones fósforo o nitrógeno, y la llama conduce una corriente eléctrica, la cual se utiliza para la determinación de compuestos que tiene esos dos elementos<sup>38</sup>.

#### 4.6 POLUCIÓN DEL AGUA

También, el uso abusivo y descontrolado del agua llevo a la polución preocupante de los recursos hídricos en escala mundial resultando, en muchas regiones, en la escasez de agua de buena calidad para el desempeño de los seres vivos, producción de alimentos y otros usos indispensables para la vida y desarrollo de la vida acuática<sup>39 40</sup>.

Suseela<sup>41</sup> afirma que está demostrado que las concentraciones letales para diferentes formas de vida acuática son relativamente bajas, provocando daños serios en el fitopláncton, disminuyendo su capacidad de liberar oxígeno, afectando por consiguiente los niveles del mismo en los cuerpos de agua.

<sup>38</sup> Ibid., p. 710

<sup>39</sup> VINATEA-ARANA, L. A. Op cit., p. 173

<sup>40</sup> KNIE, J. L & LOPES, W. E. Op cit, p. 14

<sup>41</sup> SUSEELA, K. Toxic effects of insecticide, New York: Lion, 1994. p. 26

**4.6.1 Clasificación de los poluentes.** Los poluentes son clasificados dependiendo de su estado físico, naturaleza química y acción sobre los organismos vivos, como podemos observar en la tabla 3.

## 4.7 PESTICIDAS

Conforme la FAO<sup>42</sup>, un pesticida es una sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de animales y, de las especies no deseadas de animales y plantas que perjudican o interfieren de cualquier otra forma la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera, etc.

Tabla 3. Clasificación de los poluentes.

Clasificación	Tipo de poluyente
Estado físico	Materia en suspensión (sólidos) Materia en solución (líquidos y gases)
Naturaleza química	Materia orgánica (con carbono) Materia Inorgánica (sin carbono)
Acción en los seres vivos	Biodegradable (demandan oxígeno, BOD) Biorresistente (no pueden degradarse a través de bacterias) Tóxicos (producen enfermedades o la muerte)

VINATEA-ARANA, L. A. Op. cit, p. 174

**4.7.1 Clasificación de los pesticidas.** Para efectos de toxicidad a los peces, los mismos fueron clasificados en alta, media y baja, en función de los resultados de concentración letal al 50%, obtenidas de pruebas de bioensayo, siendo definidos los niveles de toxicidad en la tabla 4.

Las CL50/96h, con base en los cuales se clasifica un producto, se toman de pruebas hechas con mamíferos. Los peces al tener un nivel de colinesterasa superior al de la mayoría de mamíferos, son duramente afectados, no siendo comparables los efectos sobre los dos tipos de organismos<sup>43</sup>.

<sup>42</sup> FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Roma: FAO, 1986. p. 31

<sup>43</sup> MINAMBIENTE. Informe Nacional "Reducción del escurrimiento de plaguicidas al mar caribe" proyecto GEF PDF-B. PNUMA-UCR/CAR. Colombia, Noviembre, 2000. p. 84

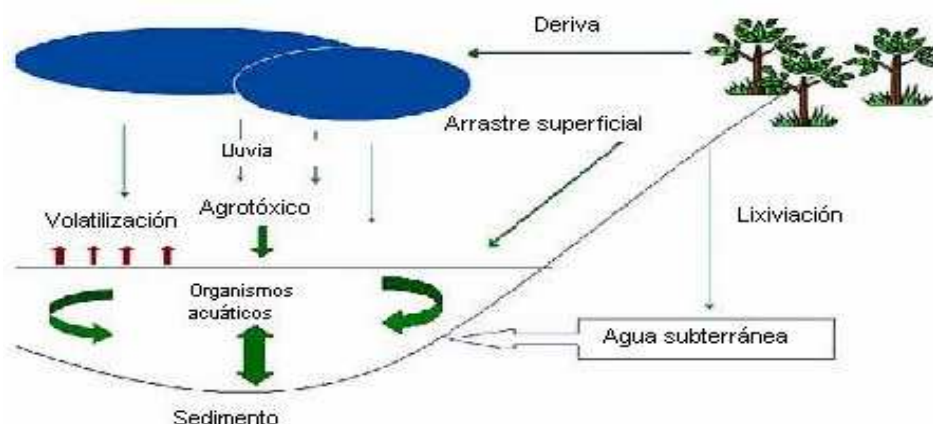
Tabla 4. Clasificación de los tóxicos.

Concentración letal a 50% (mg/L)	Niveles de toxicidad	
Menor que 1 mg/L	Alta	
Entre 1 y 10 mg/L		Media
Más de 10 mg/L		Baja

RESENDE, E. K. de. Influência das atividades antrópicas sobre os peixes da bacia hidrográfica do rio Miranda, período de 1985 a 1987. Corumbá, MS: EMBRAPA-CPAP, Documento 15. 1995. p. 7

**4.7.2 Presencia de pesticidas en los cuerpos de agua.** La introducción y posterior contaminación de los cuerpos de agua con insecticidas se dan por diferentes vías (Figura 6) <sup>44 45</sup>.

Figura 6. Movimiento de los agrotóxicos en ecosistemas acuáticos. Adaptado de Nimmo, 1985.



**4.7.3. Pesticidas organofosforados y su efecto sobre la Acetilcolinesterasa (AChE).** Los pesticidas organofosforados son introducidos para reemplazar a los organoclorados que son más persistentes bioacumulables y tóxicos, afectando a los predadores de primer nivel<sup>46</sup>. Los organofosforados ejercen su mecanismo de acción a través de la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas provocando inhibición de la misma.

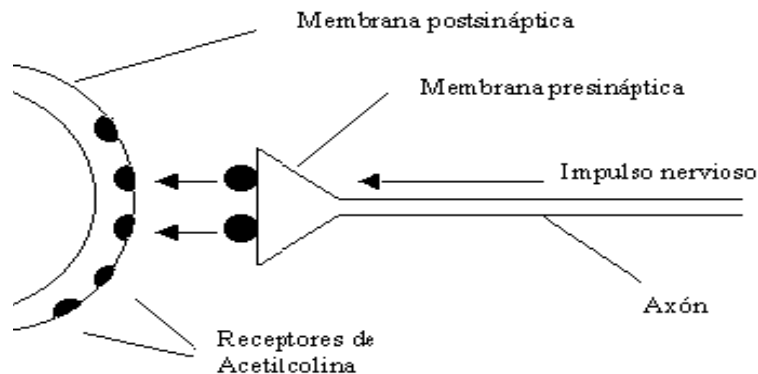
<sup>44</sup> CARLSON, G. Pesticides and Pest Management. In: Carlson, Zilberman and Miranowski. *Agricultural and Environmental Resource Economics*. Oxford University: Llon, 1993. p. 102-104

<sup>45</sup> BAPTISTA, G.C. Introdução e ocorrência de defensivos agrícolas no meio ambiente. Brasília: MEC/ABEAS, 1988. p. 4

<sup>46</sup> MURPHY, S. D. Toxic effects of insecticides. In: KLAASSEN, C.; AMDUR, M and DOULL, J. (Eds) *Toxicology, the basic science poisons*, 3<sup>ra</sup> Ed. 1986. p 530 – 532

Para Kime<sup>47</sup>, en la transmisión normal, en la sinapsis, un impulso nervioso libera el neurotransmisor acetilcolina y se transmite a la célula próxima (Figura 7), además, se libera la enzima acetilcolinesterasa (AChE), la cual desdobla la acetilcolina en acetato y colina, que son de menor toxicidad.

Figura 7. Representación de la sinapsis nerviosa.



En presencia de insecticidas organofosforados ocurre una neurotransmisión anómala. A nivel sináptico, el impulso nervioso libera la acetilcolina, mientras que el tóxico bloquea la acción detoxificadora de la AChE (Figuras 8-9); la concentración de acetilcolina aumenta en las sinapsis neurona/neurona y neurona/músculo a niveles efectivamente tóxicos para el organismo produciendo una sobreexcitación del sistema nervioso, contracciones rápidas de los músculos voluntarios y finalmente parálisis respiratoria, pudiendo llevar a la muerte<sup>48 49 50</sup>.

Estos productos presentan propiedades como:

- ◆ Son liposolubles: facilitan su absorción por que atraviesa fácilmente las barreras biológicas como piel, mucosas, también penetran fácilmente en el sistema circulatorio y sistema nervioso central. Algunos productos pueden almacenarse en tejido graso lo que puede provocar toxicidad retrasada debido a la liberación tardía.
- ◆ Degradables: sufren hidrólisis en medio alcalino en tierra como en líquidos biológicos, no siendo persistentes en el ambiente.

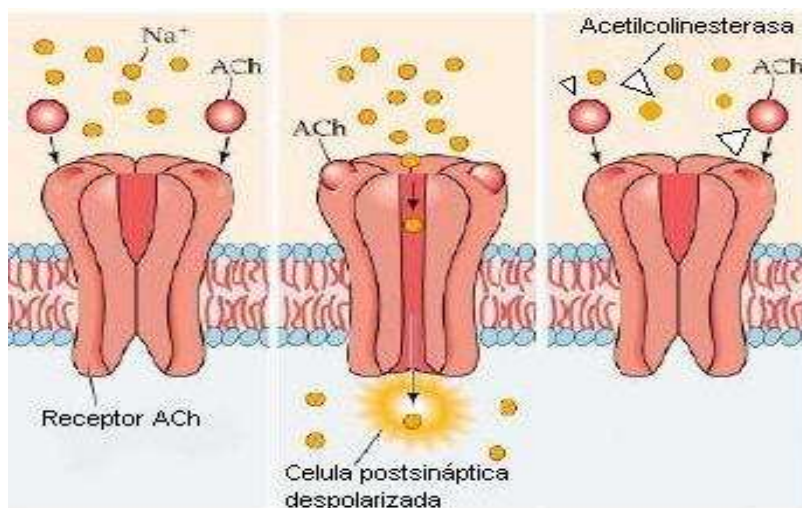
<sup>47</sup> KIME, D. Op. cit., p. 5 – 7

<sup>48</sup> ESPINOSA, J. Muestreo para el Control de la Calidad de Plaguicidas Agrícolas. Panamá. 2003. p. 20

<sup>49</sup> TOMLIN, C. The pesticide manual: a world compendium, incorporating the agrochemicals handbook. 10th ed. Great Britain: *Crop Protection Publications*, 1994. p. 462-463.

<sup>50</sup> GIESY, J.; SOLOMON, J.; COATS, J.; DIXON, K.; GIDDINGS, J. AND KENAGA, E. Chlorpyrifos: Ecological Risk Assessment in North American Aquatic Environments. *J. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 160, (1999). p. 34-36

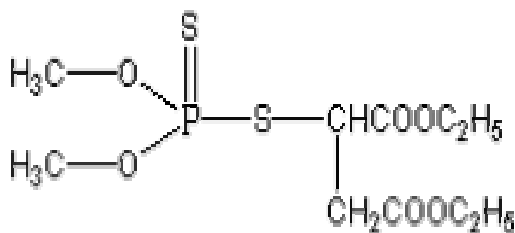
Figura 8. Intoxicación causada por la acumulación de acetilcolina (ACh) e inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE).



- **Organofosforado malathion.** El malathion, un insecticida organofosforado alifático (estructuras de carbonos en forma de cadenas), no sistémico, de amplio espectro introducido en el año de 1950, para control de insectos en frutas y vegetales, control de mosquitos y moscas, ectoparásitos, existiendo en varias presentaciones como granuladas, emulsión, polvo y otras.

Las características del producto son:

- ◆ Fórmula molecular:  $C_{10}H_{19}O_6PS_2$
- ◆ Nombre químico: O-O dimetil ditiofosfato de dietil - mercapto - succinato
- ◆ Punto de fusión: 2,85°C
- ◆ Presión de vapor (30°C):  $4 \times 10^{-5}$  mm Hg o 5,3 mPa
- ◆ Solubilidad: (25°C): 145 mg/l
- ◆ Categoría toxicológica: II Altamente tóxico
- ◆ Riesgo ambiental: producto peligroso
- ◆ Fórmula estructural:

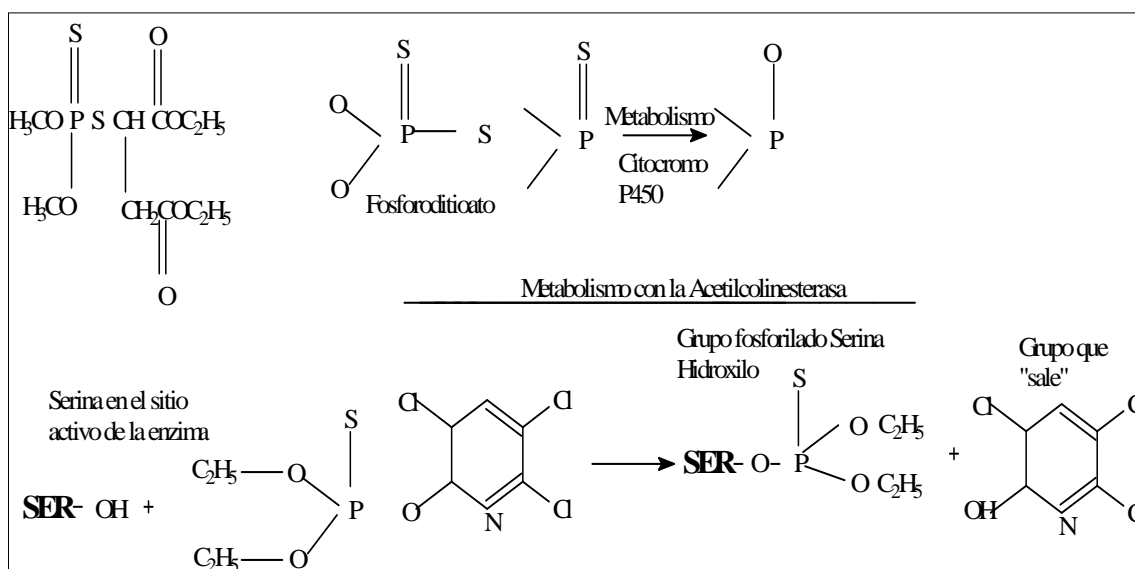


La temperatura, el pH, la radiación solar y las concentraciones de cationes metálicos tienen una correlación negativa con el tiempo de vida medio del organofosforado clorpirifos<sup>51 52</sup>.

El malathion por hidrólisis a un pH 7 el tiempo medio de vida es de 6,21 días, en pH 9 cae a tan solo 12 horas mientras que es bastante estable a un pH 5 donde su tiempo medio de vida es de 107 días.

Los productos que poseen una solubilidad en agua mayor de 30 mg/L pueden presentar potencial de lixiviación y contaminar el agua subterránea<sup>53</sup>. La solubilidad en el agua es importante en los procesos de distribución en el suelo: una alta solubilidad da más fácil la solución de suelo<sup>54</sup>.

Figura 9. Mecanismo de acción del malathion sobre la AChE.



BLOOMQUIST, J. Insecticidas: Químicas y características. 1996. p. 7

<sup>51</sup> MILLER, T.; NELSON, L.; YOUNG, W.; ROBERTS, L.; ROBERTS, D and WILKINSON, R. Polymer formulations of mosquito larvicides. I. Effectiveness of polyethylene and polyvinyl chloride formulations of chlorpyrifos applied to artificial field pools. *Mosquito News*. Vol. 33, No. 2, (1973). p. 148-155. In: GIESY, J., SOLOMON, J., COATS, J., DIXON, K., GIDDINGS, J and KENAGA, E. Chlorpyrifos: Ecological Risk Assessment in North American Aquatic Environments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 160. (1999). p. 35-38

<sup>52</sup> KNUTH, M and HEINIS, L. Dissipation and persistence of chlorpyrifos within littoral enclosures. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 40, (1992). p. 1257-1263. In: GIESY, J., SOLOMON, J., COATS, J., DIXON, K., GIDDINGS, J and KENAGA, E. Chlorpyrifos: Ecological Risk Assessment in North American Aquatic Environments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 160. (1999). p. 75-78

<sup>53</sup> ESPINOSA, J. Op. cit., p. 9

<sup>54</sup> CREMLYN, R. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Ed Limusa. 1986. p. 40



## 5. DISEÑO METODOLÓGICO

Todo el material y la metodología que se utilizó en este trabajo siguieron las recomendaciones para pruebas de toxicidad aguda con peces de las normas de APHA<sup>55</sup>, IBAMA<sup>56</sup>, CETESB<sup>57</sup>, con ligeras modificaciones a los rangos de fotoperíodo (12 horas de luz); oxígeno disuelto ( $\geq 4,0$  mg/l); dureza (30 – 48 mg/l CaCO<sub>3</sub>); conductividad eléctrica (100–170 $\mu$ S/cm) y pH (7,0 – 7,6).

### 5.1 LOCALIZACIÓN

El experimento fue realizado en la sala de bioensayos del Laboratorio de ecotoxicología de agrotóxicos, salud ocupacional y cromatografía gaseosa del Departamento de Fitosanidad de la FCAV / UNESP, Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil, con ubicación geográfica 21°15'22" latitud sur, 48°18'58" longitud oeste, altitud que varia de 555 a 626 m.s.n.m, temperaturas promedio en el mes más caliente (Enero), de 23,8°C y en el mes más frío (Junio) de 17,4°C, precipitación anual de 1431 mm, y humedad relativa del aire de 70,6%.

### 5.2 INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES

Los ensayos fueron realizados en una sala provista de aire acondicionado, con temperatura de 25°C  $\pm$  2,0°C, fotoperíodo de 11 horas de luz artificial y aireación constante, en sistema estático.

#### 5.2.1 Equipos y materiales

Cromatógrafo de gases Varian 3800, autosampler CP 8400  
Balanza analítica Sartorius BL 210 S  
Oxímetro OXI 3151 marca WTW  
Conductivímetro Cond 3151 marca WTW  
pH metro pH 3151 marca WTW

---

<sup>55</sup> APHA (American Public Health Association). Standard Methods for the water and wastewater, 17 ed. Washington D. C: 1991. p. 83-86

<sup>56</sup> IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação da toxicidade aguda para peixes. Em: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. Brasília: 1987. p. 45-48

<sup>57</sup> CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Água – teste de toxicidade aguda com peixes: parte I sistema estático. Em: Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos. São Paulo: 1999, p. 13-15

Pipeta (1-5 ml) y micro pipetas (1,0, 10 y 50  $\mu$ l) Labmate  
Papel filtro 14  $\mu$ m  $\phi$   
Freezer's Consul 530 y Consul 280  
Regulador de fotoperíodo  
42 Acuarios de 8,0 litros  
Beakers de 10, 50, 100 y 500 ml  
Balones volumétricos de 50, 250, 1000 y 2000 ml  
Probetas de 10, 50, 250, 500, 1000 y 2000 ml  
Manguera para acuario  
Bombas de aire  
Ganchos de madera  
Coladores  
Guantes quirúrgicos

### 5.2.2 Productos químicos

Malathion 500 CE líquido. Industria DIPIL LTDA  
Malathion Cheminova 99,9%  
Dicromato de Potasio Merck  
Sulfato de Sodio Synth P. A  
Acetato de Etilo Mallinckrodt HPLC  
Diclorometano Mallinckrodt HPLC

Figura 10. Materiales y equipos utilizados en los ensayos.



### 5.3 MATERIAL BIOLÓGICO

Los alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) que se utilizaron en el experimento, provinieron del laboratorio de tilapia del Centro de Acuicultura de la UNESP, de padres puros de Mozambique. Según APHA, IBAMA, CETESB, la relación biomasa/agua, debió mantener un volumen de solución - ensayada que permita mantener la relación de máximo 1,0 gramos de pez por litro de solución – prueba. El número de animales que se necesitó para la conducción del experimento entre ensayos de sensibilidad, preliminares y definitivos fue de 1500 alevinos con un peso promedio de  $1,24 \pm 0,63$  g, con talla promedio de  $3,10 \pm 0,90$  cm de longitud total (Anexo A), distribuidos completamente al azar en cada uno de los tratamientos.

Figura 11. Alevino de tilapia nilótica.



### 5.4 PLAN DE MANEJO

Antes de realizar cualquier ensayo se debió limpiar la sala de bioensayos con alcohol y acetona para eliminar los residuos de pruebas anteriores\*.

**5.4.1 Sala.** En el acondicionamiento de la sala para los ensayos se verificó para su mejor eficiencia la correcta instalación de equipos y materiales como líneas de aire, luz artificial, acuarios, tomas de agua, evitando así contratiempos durante el montaje y la conducción del experimento.

**5.4.2 Agua.** En todas las pruebas preliminares y definitivas se utilizó agua natural de pozo, debidamente aireada con ayuda de dos bombas para acuario garantizando un contenido mínimo de oxígeno de 4,0 mg/L.

\* COMUNICACIÓN PERSONAL. Winkaler, Elissandra. Estudiante de doctorado CAUNESP. 2005

**5.4.3 Acuarios.** Fueron lavados con la secuencia: agua de grifo - jabón - acetona - agua destilada, antes y después de cada ensayo para evitar contaminación del ensayo con otros productos y posterior secado a temperatura ambiente\*. Para cada replica fueron adicionados seis litros de agua.

**5.4.4 Peces.** Los peces tuvieron que ser aclimatados por lo menos una semana antes del desarrollo de la prueba en la sala de ensayos para su adaptación a las condiciones de luz artificial como también de oxígeno, pH, temperatura, conductividad del agua que fue utilizada en la etapa de experimentación. 24 horas antes del inicio de cada prueba, a los animales no se suministró comida para evitar el deterioro de la calidad del agua y observaciones sanitarias como presencia de animales enfermos, muertos, con malformaciones, etc. Además, durante el montaje del ensayo los animales que por accidente cayeron fueron descartados<sup>58 59 60</sup>. Cada acuario considerado como una unidad experimental tuvo tres animales y tres replicas por tratamiento sin sobrepasar la densidad máxima permitida de 1,0 gramos de biomasa por litro de agua. Los animales fueron colocados a exposición del tóxico después de transcurrido las 0, 12 y 24 horas dependiendo de cada uno de los ensayos.

**5.4.5 Sedimento.** Se tomó de una capa de 5 a 10 cm de profundidad del estanque de cultivo número 13 que estaba en proceso de secado, libre de tóxicos del sector de Carcinicultura del Centro de Acuicultura de la UNESP. Para las pruebas con sedimento se colocó un kilogramo del mismo por acuario distribuido uniformemente, previamente pasado por un ojo de malla de 0,5 cm, retirado el material vegetal de mayor tamaño, esterilizado a 121°C, 15 PSI por dos horas y proceso de secado a temperatura ambiente dentro de un invernadero y cubierto con un plástico oscuro de alto calibre, evitando su contaminación (Figura 12). El sedimento utilizado fue almacenado en bolsas plásticas a temperatura inferior a 40°C y no se sobrepasó el tiempo máximo de seis semanas después de la colecta del material<sup>61</sup>. Cuando se terminó cada prueba con sedimento, este fue retirado del acuario con cuidado, colocado en bolsas plásticas y llevadas posteriormente a un sitio adecuado para su desecho.

Se modificó la proporción sedimento/agua de 1:4<sup>62</sup> a la relación 1:6 de acuerdo con las prácticas desarrolladas en el laboratorio de ecotoxicología.

---

\* COMUNICACIÓN PERSONAL. Winkaler, Elissandra. Estudiante de doctorado CAUNESP. 2005

<sup>58</sup> IBAMA. Op. cit, p. 17-18

<sup>59</sup> CETESB. Op. cit, p. 12

<sup>60</sup> MURTY, A. Toxicity of pesticides to fish. CRC Press. Vol. 2. (1988). p. 165

<sup>61</sup> BURTON Jr., G. A. Plankton, macrophyte, fish and amphibian toxicity testing of freshwater sediments. In:

BURTON, A. G. Sediment toxicity assessment. Londres: Lewis Publishers, 1992. p. 167-169

<sup>62</sup> Ibid., p. 171

Figura 12. Sedimento empleado para las pruebas de toxicidad aguda.



## 5.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CLASE TEXTURAL DEL SEDIMENTO

Dos muestras de suelo cada una de un kilogramo fueron enviadas al laboratorio de suelos y abonos de la FCAV/UNESP, donde se determinó su composición química (pH, materia orgánica, acidez intercambiable, potasio, calcio y magnesio) y clase textural.

## 5.6 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PATRÓN Y PRUEBA

Las soluciones patrón para el experimento se prepararon por medio de adición de alícuotas de la formulación comercial Malathion CE 500 g/l. El dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) grado analítico fue utilizado como sustancia referencia, para el control de la sensibilidad y salud de los peces durante las pruebas.

$$C_1V_1=C_2V_2 \quad \text{Donde:}$$

$C_1$  = Concentración de la solución madre (?)

$V_1$  = Volumen solución madre

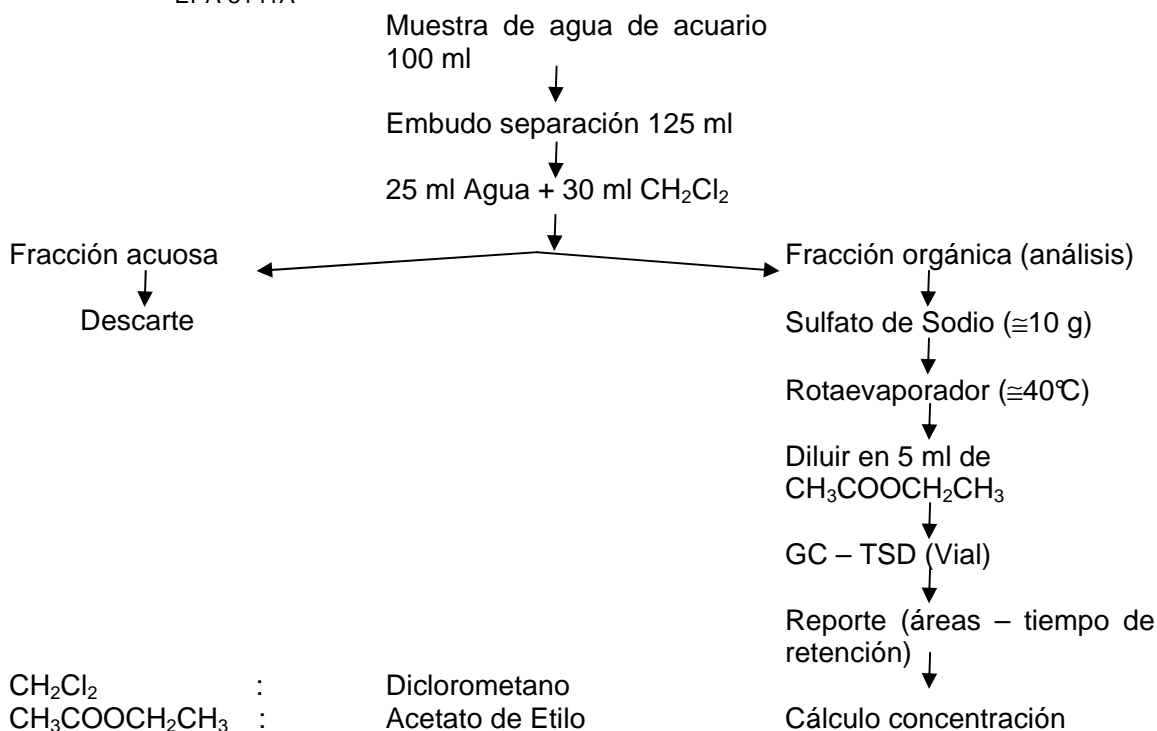
$C_2$  = Concentración deseada

$V_2$  = Volumen de agua en acuario

## 5.7 TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras analizadas se tomaron de todos los acuarios correspondientes a los ensayos de 12 y 24 horas. La metodología para un análisis por estándar externo que fue el utilizado para extraer las muestras se presenta en la figura 13.

Figura 13. Metodología para extracción de muestras cromatográficas. Adaptado de EPA 8141A



## 5.8 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL MALATHION

Las condiciones cromatográficas para el malathion, en el cromatógrafo a gas Varian 3800, utilizando el detector termoiónico específico (TSD) fueron optimizadas para el menor tiempo y menor variación posible, teniendo en cuenta la gran cantidad de muestras analizadas durante el proyecto.

- Columna CP SIL 8 CB (Varian), 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm;
- Autosampler CP 8400;
- Inyector split/splitless splitless por 1 min.
- Detector TSD
- Temperatura del inyector 260 °C

- Temperatura del detector 300 °C

Rampa de calentamiento:

100°C por 1 min.; siguiendo de 100 a 280°C, con tasa de calentamiento de 20°C/min.; 280°C por 2 min.; y de 280 a 300°C a 20°C/min, y 300°C por 1 min.

Flujo de los gases:

- Nitrógeno (5,0 ECD) 2 mL/min.
- Hidrógeno (5,0 ECD) 4 mL/min.
- Aire Sintético (5,0 FID) 175 mL/min.
- Make-up 0 mL/min.
- Purga del septo 3 mL/min.
- Vent 7 mL/min.

Figura 14. Componentes del cromatógrafo de gases Varian 3800.



**5.8.1 Repetibilidad de inyecciones cromatográficas de malathion.** Para verificar la repetibilidad de las inyecciones de malathion, empleando el autosampler CP 8400, del cromatógrafo de gases Varian 3800, fueron realizadas 11 inyecciones de una solución 1,0 ppm bajo las condiciones preestablecidas.

**5.8.2 Límite de detección.** La menor concentración de un analito, que se puede distinguir de una muestra en blanco con una confianza razonable.

$$LD = \frac{3 * s}{S} \quad \text{Donde:}$$

s= desviación estándar de la respuesta

S= coeficiente angular del gráfico de calibración o sensibilidad del equipo

**5.8.3 Límite de cuantificación.** Concentración mínima que puede determinarse con nivel aceptable de exactitud y precisión, bajo condiciones experimentales.

$$LC = \frac{10 * s}{S}$$

**5.8.4 Curva de calibración de malathion.** Debido a las diversas concentraciones que fueron obtenidas durante los procedimientos, se estableció una curva de calibración con valores de 0,25 a 4,0 mg/L de malathion en acetato de etilo grado HPLC, en las condiciones cromatográficas ya descritas.

En cada análisis fue inyectada una curva analítica, pues podría ocurrir pequeñas variaciones en las condiciones de trabajo (flujo de los gases, principalmente), las cuales traen variaciones en la área del malathion. Cada punto de la curva fue inyectado cuatro veces para eliminar la incertidumbre y tener mayor nivel de confianza con los datos obtenidos. La curva de calibración se debe presentar con la respectiva ecuación de la recta y observar una excelente linealidad.

**5.8.5 Recuperación de malathion empleando extracción líquido - líquido (LLE).** Una etapa importante en el proyecto fue el estudio de la degradación de malathion en medio acuoso, en condiciones controladas (temperatura, luz, concentración), siendo necesario el desarrollo y/o adaptación de una metodología adecuada para extracción/concentración de malathion en el agua. Como punto de partida se empleó el método EPA 8141A<sup>63</sup>, con algunas adaptaciones, para las condiciones disponibles en el laboratorio de salud ocupacional (Figura 13).

$$\text{Rec \%} = 100 - \left[ \frac{\text{Valor obtenido} - \text{Valor real}}{\text{Valor real}} * 100 \right]$$

---

<sup>63</sup> USEPA (Environmental Protection Agency). Method 8141<sup>a</sup>: Organophosphorus compounds by gas chromatography capillary column technique. 1994. p 34-35.



**5.8.6 Limite de confianza para el tiempo de retención.** Teniendo en cuenta que el criterio para identificar el malathion fue el tiempo de retención este valor se calculó mediante la formula:

$$L.C = \mu \pm \frac{T \text{ student} * S}{\sqrt{n}} \quad \text{Donde:}$$

$\mu$ = Media de las observaciones

S= desviación estándar de las observaciones

n= número de observaciones

T= 2,23 (95%)

## 5.9 TRATAMIENTOS

Ensayo	Tratamiento/Dosis ppm						
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	
SS 0	0	0,205	0,251	0,307	0,342	0,388	
CS 0	T6	T7	<b>T8</b>	T9	T10	T11	
Horas	0	0,301	0,329	0,356	0,383	0,411	
SS 12	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18
Horas	0	0,319	0,411	0,502	0,593	0,684	0,776
CS 12	T19	T20	T21	T22	T23	T24	T25
Horas	0	0,365	0,456	0,547	0,639	0,730	0,821
SS 24	T26	T27	T28	T29	T30	T31	
Horas	0	0,639	0,821	1,004	1,186	1,369	
CS 24	T32	T33	T34	T35	T36	T37	
Horas	0	0,547	0,730	0,912	1,095	1,277	

SS: Sin Sedimento

CS: Con Sedimento

## 5.10 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los datos de mortalidad obtenidos del experimento de malathion con tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) se evaluaron con el programa estadístico "Trimmed Spearman Karber para calcular la CL50 a las 96 horas de exposición.

## 5.11 VARIABLES EVALUADAS

El pH, oxígeno disuelto y temperatura estudiadas durante en proyecto fueron clasificadas como variables fijas por encontrarse en un medio controlado y las variables de respuesta son presentadas a continuación:

**5.11.1 CL50.** Es definida y estandarizada como la concentración de agente tóxico que causa mortalidad de 50% en la población de los organismos sometidos a la prueba, en un determinado tiempo de exposición. Se calculó por el método estadístico Trimmed Spearman-Kärber fundamentado bajo la siguiente ecuación:

Sí  $p(l) = 0.0$  y  $p(k) = 1,0$

$$m = \sum_{i=1}^{K-1} \left( (p(i) + p(i+1)) \frac{(x(i) + x(i+1))}{2} \right)$$

donde:

- $k$  : número de concentraciones
- $n(i)$  : número de individuos expuestos a concentraciones  $i, i=1, \dots, k$
- $r(i)$  : número de individuos que responden a concentraciones  $i, i=1, \dots, k$
- $p(i) = r(i)/n(i)$  : proporción de individuos que responden a concentraciones  $i, i=1, \dots, k$
- $x(i)$  : logaritmo natural de la concentración  $i$
- $m$  : media del logaritmo de distribución de tolerancia, i.e Ln de la CL50

**5.11.2 Porcentaje de mortalidad.** Se expresa como la relación entre el número de animales muertos y la población total, por 100. Fue evaluada al terminar cada ensayo toxicológico con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ mortalidad} = \left( \frac{\text{Número de animales muertos}}{\text{Número total de animales}} \right) * 100$$

**5.11.3 Residuo del malathion en el agua.** Las muestras fueron extraídas y posteriormente analizadas por técnicas de cromatografía gaseosa bajo la metodología descrita en la figura 13 junto con las condiciones preestablecidas en el numeral 5.8.

## 6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CLASE TEXTURAL DEL SEDIMENTO.

Las muestras de sedimento enviadas al laboratorio de suelos y abonos de la FCAV/UNESP, obtuvieron los resultados presentados en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis químico y granulométrico del sedimento.

Composición química	Valor	Granulometría	Valor
pH (CaCl <sub>2</sub> )	5,9	Arcilla (g/Kg)	490
MO (g/dm <sup>3</sup> )	29	Limo (g/Kg)	280
P (resina mg/dm <sup>3</sup> )	177	Arena fina (g/Kg)	110
K (mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> )	2,2	Arena gruesa (g/Kg)	120
Ca (mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> )	63	Clase textural	Arcillosa
Mg (mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> )	40		
H+ Al (mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> )	18		
SB (mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> )	105,2		
T (mmol <sub>e</sub> /dm <sup>3</sup> )	123,2		
V (%)	85		

MO= materia orgánica; SB= suma de bases; T= capacidad de intercambio catiónico; V= porcentaje de saturación de bases.

### 6.2 CÁLCULO DE LA CL50 –96 HORAS.

Los parámetros físico-químicos del agua utilizada para las pruebas se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros físico-químicos del agua de pozo.

	pH	Oxígeno mg/L	Conductividad μS/cm	Temperatura °C	Amonio mg/L	Nitrito Mg/L	Dureza mg/L CaCO <sub>3</sub>
	7,77	6,1	162	24,3	n.d	n.d	54
	7,6	6,3	151	23,9	n.d	n.d	45
	7,68	6	147	24,6	n.d	n.d	52
Media	7,7	6,1	153,3	24,3	—	—	50,3

**6.2.1 Mortalidad, ecuaciones lineales y R<sup>2</sup>.** Las ecuaciones lineales y R<sup>2</sup> debido a que la mayor parte de la curva dosis respuesta es lineal y en lo que en

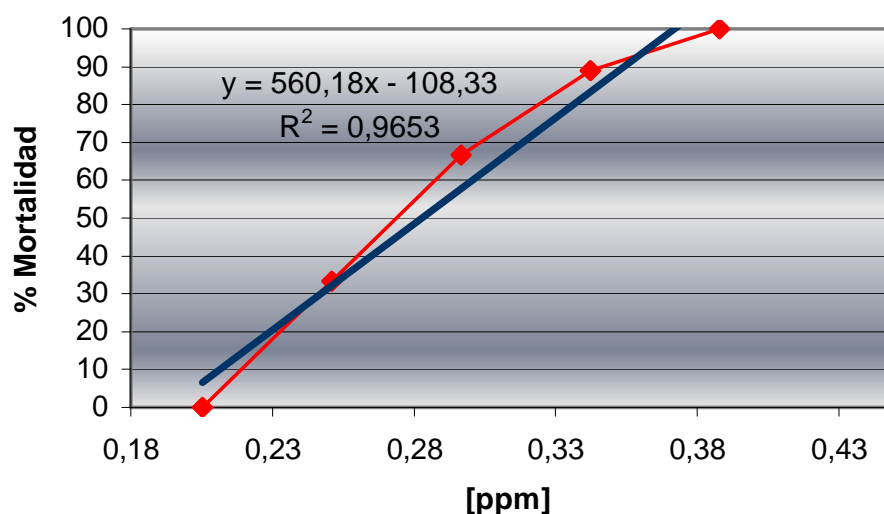
esta parte se refiere a la incidencia de la muerte está directamente relacionada con la concentración del compuesto en estudio<sup>64</sup>, que para cada prueba se presentan en las tablas 7 a 12, la mortalidad de cada ensayo y su figura. Cabe resaltar que la presencia de sólidos suspendidos no influyó en la mortalidad de los organismos debido a la nula mortalidad en los tratamientos controles.

El coeficiente de determinación  $R^2$  se puede interpretar como la proporción de la varianza de la mortalidad, que puede atribuirse a la varianza en la concentración de la dosis de malathion suministrada.

Tabla 7. Mortalidad del malathion a las 0 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en ausencia de sedimento.

[ppm]	Horas				Total Mortalidad	% mortalidad
	24	48	72	96		
0	0	0	0	0	0	0
0,205	0	0	0	0	0	0
0,251	2	1	0	0	3	33,33
0,297	0	2	2	2	6	66,67
0,342	3	2	2	1	8	88,89
0,388	2	3	3	1	9	100

Figura 15. Relación concentración/efecto del malathion a las 0 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en ausencia de sedimento.



<sup>64</sup> LOOMIS, T. Aspectos cuantitativos de la toxicología. En: Fundamentos de toxicología. Ed. Acribia. 1982. p. 33.

Tabla 8. Mortalidad del malathion a las 12 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en ausencia de sedimento.

[ppm]	Horas				Total Mortalidad	% mortalidad
	24	48	72	96		
0	0	0	0	0	0	0
0,319	0	0	0	0	0	0
0,411	0	0	0	0	0	0
0,502	0	0	2	0	2	22,2
0,593	0	0	4	1	5	55,6
0,684	1	1	6	0	8	88,9
0,776	1	5	3	0	9	100

Figura 16. Relación concentración/efecto del malathion a las 12 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en ausencia de sedimento.

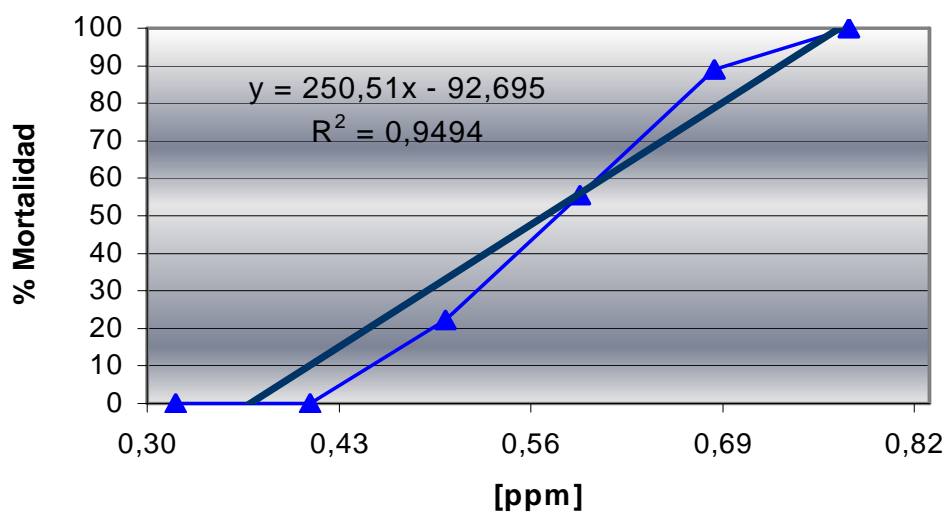


Tabla 9. Mortalidad del malathion a las 24 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en ausencia de sedimento.

[ppm]	Horas				Total Mortalidad	% mortalidad
	24	48	72	96		
0	0	0	0	0	0	0
0,639	0	0	0	0	0	0
0,821	0	1	1	2	4	44,4
1,004	4	2	2	0	8	88,9
1,186	4	3	2	0	9	100,0
1,369	7	2	0	0	9	100,0

Figura 17. Relación concentración/efecto del malathion a las 24 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en ausencia de sedimento.

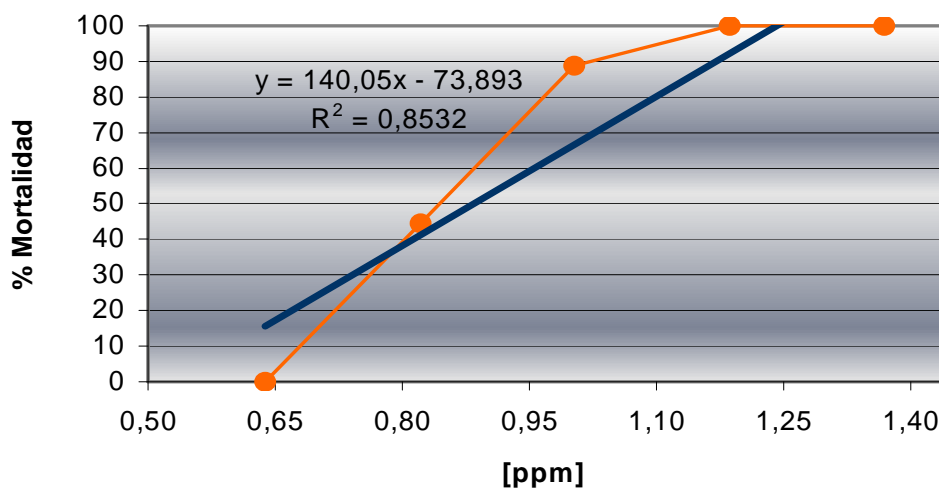


Tabla 10. Mortalidad del malathion a las 0 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en presencia de sedimento.

[ppm]	Horas				Total Mortalidad	% mortalidad
	24	48	72	96		
0	0	0	0	0	0	0
0,301	0	0	0	0	0	0
0,328	2	1	0	1	4	44,44
0,356	1	3	0	1	5	55,56
0,383	1	4	0	2	7	77,78
0,411	2	0	4	3	9	100

Figura 18. Relación concentración/efecto del malathion a las 0 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en presencia de sedimento.

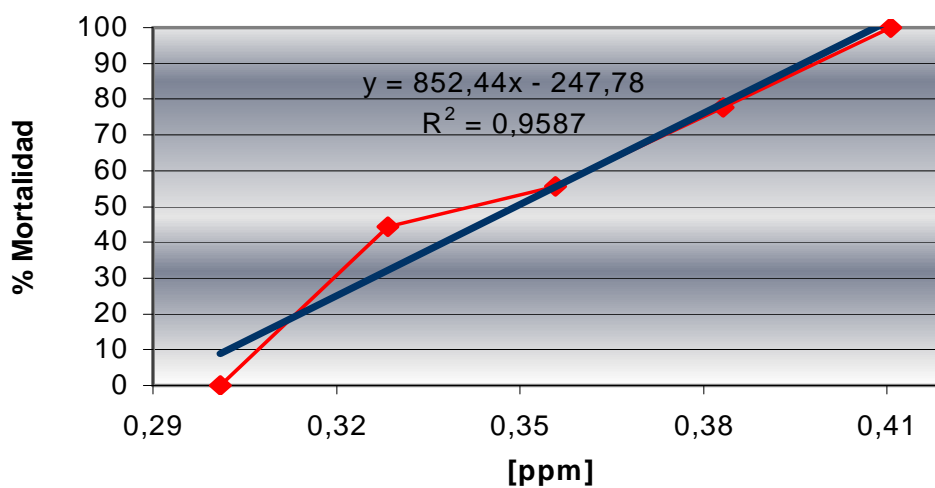


Tabla 11. Mortalidad del malathion a las 12 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en presencia de sedimento.

[ppm]	Horas				Total Mortalidad	% mortalidad
	24	48	72	96		
0	0	0	0	0	0	0
0,365	0	0	0	0	0	0
0,456	0	1	0	0	1	11,11
0,547	1	2	0	0	3	33,33
0,639	3	0	1	0	4	44,44
0,730	4	3	0	0	7	77,78
0,821	7	1	1	0	9	100

Figura 19. Relación concentración/efecto del malathion a las 12 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en presencia de sedimento.

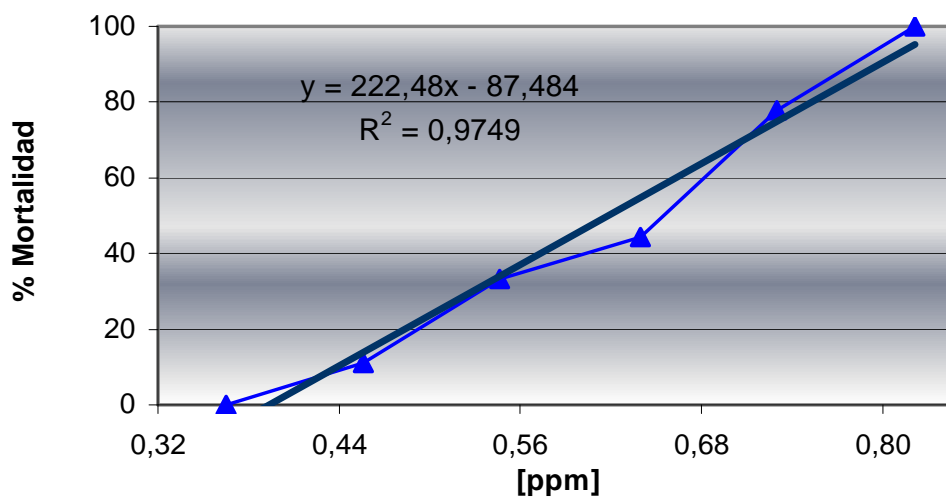
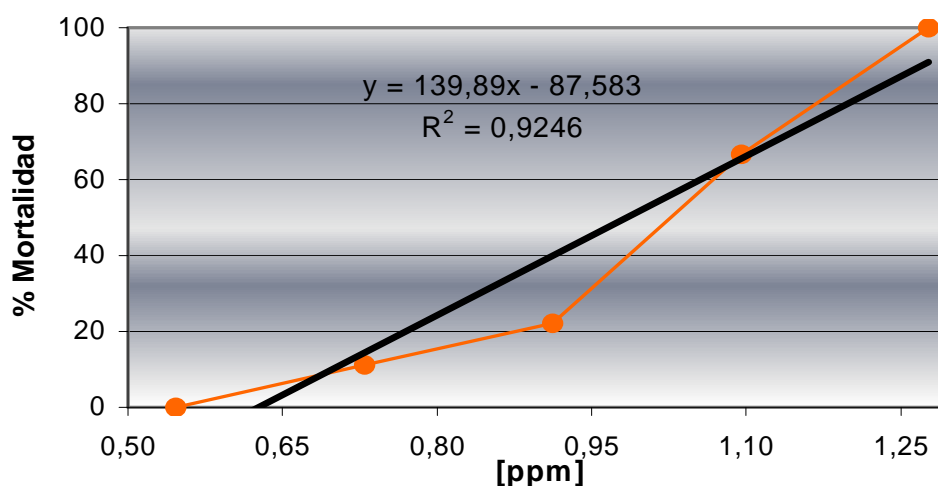




Tabla 12. Mortalidad del malathion a las 24 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en presencia de sedimento.

[ppm]	Horas				Total Mortalidad	% mortalidad
	24	48	72	96		
0	0	0	0	0	0	0
0,547	0	0	0	0	0	0
0,730	0	1	0	0	1	11,11
0,912	0	2	0	0	2	22,22
1,095	3	3	0	0	6	66,67
1,277	8	1	0	0	9	100

Figura 20. Relación concentración/efecto del malathion a las 24 horas en alevinos de *Oreochromis niloticus* en presencia de sedimento.



Con los datos finales de mortalidad se calculó la CL50 con el programa estadístico Trimmed Spearman Karber versión 1,5 (Tabla 13, Anexo B)

Tabla 13. CL50 calculadas en *Oreochromis niloticus* para el malathion.

Tiempo (Hrs)	CL50 96 Hrs (mg/L)	
	Ausencia	Presencia
0 <sub>LI-LS (95%)</sub>	0,2742 (0,25 - 0,30)	0,3462 (0,33 - 0,36)
12 <sub>LI-LS (95%)</sub>	0,5695 (0,53 - 0,62)	0,6087 (0,56 - 0,67)
24 <sub>LI-LS (95%)</sub>	0,8381 (0,77 - 0,91)	0,9821 (0,89 - 1,08)

LI: Límite Inferior; LS: Límite Superior

De acuerdo con la clasificación de la tabla 4, el malathion es altamente tóxico para los peces presentando valores inferiores a 1,0 mg/L para los seis ensayos definitivos realizados con *Oreochromis niloticus*.

La adsorción de moléculas de una fase fluida (gas o líquido) en la superficie de un sólido está estrechamente ligada a la catálisis heterogénea, donde todos los sólidos tienen la propiedad de fijar (adsorber) en su superficie las moléculas, átomos, o iones que se encuentren a su alrededor<sup>65</sup>; entonces la presencia de sedimento dando paso a la reacción catalítica, inclusive la difusión, implica unos valores de CL50 calculada mayores a los de las pruebas sin sedimento después del contacto con el agrotóxico, disminuyendo la biodisponibilidad, se pudo tener una adsorción creciente a medida que el tiempo pasa influenciando indirectamente en la persistencia del tóxico para los animales, hecho que también es observado por Burton y Landrum<sup>66</sup>, donde indican que la intoxicación de los organismos por sustancias químicas en el ambiente acuático está relacionado con la capacidad de los tóxicos a asociarse y adsorber en el sedimento donde tales características físico-químicas son las bases para la verificación de contaminación, bioacumulación y transferencia de esas moléculas en los diferentes niveles tróficos<sup>67 68</sup>.

Los parámetros físico-químicos del agua se tomaron diariamente de cada réplica (Anexo C), con los siguientes valores promedio:

Tabla 14. Promedios de los parámetros físico-químicos del agua para cada prueba toxicológica.

Parámetro	Prueba(Horas) Sedimento	0		12		24	
		Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente
Temperatura(°C)		26,6	26,6	26,5	26,5	26,6	26,6
pH		7,8	7,8	7,9	7,8	7,8	7,7
Conductividad (µS/cm)		191,8	223,8	175,9	237,3	174,8	229,6
Oxígeno (mg/L)		7,1	6,9	7,1	6,8	6,9	6,8

En términos de diferencias porcentuales de la CL50 en ausencia de sedimento con respecto a los ensayos con sedimento entre lapso de tiempo, los resultados se presentan en la figura 21.

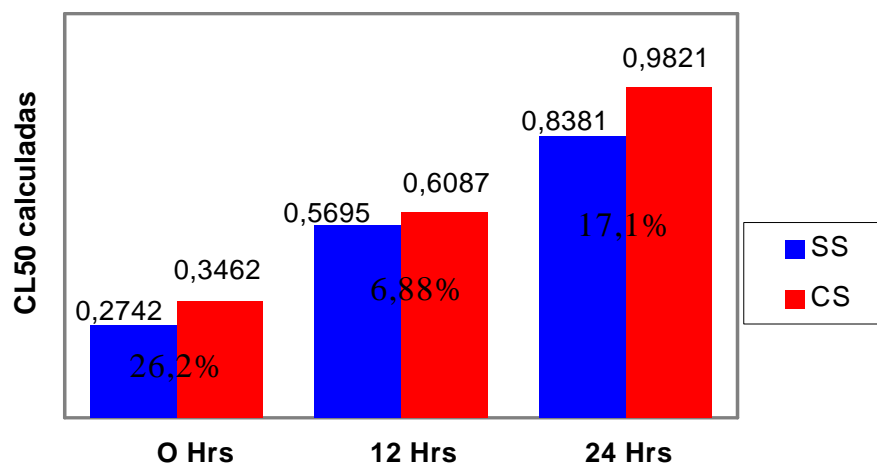
<sup>65</sup> V. Catálisis heterogénea. (online) (Mexico), 21 de Diciembre de 2006. Disponible en Internet: [http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/htm/sec\\_8.htm](http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/htm/sec_8.htm)

<sup>66</sup> BURTON, G & LANDRUM, P. Toxicity of sediments. In: Encyclopedia of sediments and sedimentary. Kluwer Academic. 2004. p. 748-750

<sup>67</sup> JONSSON, C e MAIA, A. Op. cit. p. 148

<sup>68</sup> MELO, I e AZEVEDO, J. **Microbiología ambiental**. Jaguariúna: Embrapa. 1997. p. 178

Figura 21. Diferencias porcentuales en las CL50 calculadas.



En la tabla 15 se presentan los resultados de CL50 realizando ensayos de toxicidad aguda sobre dos sistemas: con y sin sedimento, para tres especies de *Daphnias* y dos pesticidas.

Tabla 15. Toxicidad aguda de dos pesticidas en diferentes especies de *Daphnias*.

Agrotóxico	Sedimento	CE50 – 48h			
		<i>D. magna</i>	<i>D. similis</i>	<i>D. laevis</i>	Promedio
Sulfato de cobre – mg/L	Ausente	0,045	0,042	0,107	0,065
	Presente	0,347	0,282	0,140	0,257
Trichlorfon - $\mu$ g/L	Ausente	0,70	0,53	0,92	0,72
	Presente	299,70	381,62	282,73	321,35

ROMERO, L.; CRUZ, C e MACHADO-NETO, J. Efeito da presença de sedimento na toxicidade aguda do sulfato de cobre e do trichlorfon para tres especies de *Daphnia*. *Pesticidas Rev. Ecotoxicol Meio Ambiente*, Curitiba. Vol. 15, (2005). p. 59

Se puede observar que en todos los ensayos, la CL50 calculada es mayor para las pruebas con sedimento, de igual comportamiento que las pruebas desarrolladas en el presente trabajo, pero con diferencias más amplias entre las CL50 calculadas para tilápia nilótica.

Para el presente trabajo, los valores de la CL50 son inferiores entre 8,02 (0,2742 mg/L) y 2,24 (0,9821 mg/L) veces lo reportado por Pathiratne & George<sup>69</sup>, en ensayos desarrollados con tilápias adultas (*Oreochromis niloticus*), con peso entre 57 - 98 g, la CL50 fue calculada en 2,2 mg/L para el malathion. Estas diferencias podrían explicarse por el tamaño y edad de los animales que por su mayor desarrollo y actividad del sistema hepático y las enzimas de desintoxicación diferencias genéticas, toleran mas cantidad de agrotóxico<sup>70 71</sup>, o simplemente la variación en los protocolos de los laboratorios, pero a su vez dentro de los parámetros de toxicidad aguda para el malathion reportados por Shao-Nan - Defang<sup>72</sup>, siendo considerado en un nivel de moderadamente tóxico para peces con CL50–96h, entre 0,25 y 15 mg/L, y pero fuera del intervalo reportado por Mani y Konar<sup>73</sup>, para los cíclidos de 4,6 mg/L y 5,9 mg/L.

Binder et al<sup>74</sup>, usando este producto en *Cyprinus carpio* expuesto durante 96 horas a una concentración de 5,0 mg/L, detecto altas concentraciones de malathion en el hígado, músculo, sangre, branquias y cerebro (en esta orden). En observaciones macroscópicas postmortem realizadas para *O. niloticus*, fueron evidentes la decoloración de la piel, hemorragias branquiales, alta producción de mucus, convulsiones características de las pruebas de toxicidad con organofosforados.

Comparado con el pez ornamental killifish *Oryzias latipes*, la tilapia nilótica tiene mayor toxicidad al malathion reflejada en menores CL50 calculadas, mas presentando valores cercanos a los encontrados en esta investigación en su producto de oxidación, el malaoxon, con el problema de ser genotóxico (Tabla 16), concentración similar a los obtenidos en los ensayos de 0 y 12 horas de este documento.

Mayer y Ellersieck<sup>75</sup>, trabajando con salmónidos afirman que el malathion es altamente tóxico con CL50 para *Oncorhynchus mykiss* (97 µg/L); tóxico para *Oncorhynchus clarkii* (239 µg/L), *Oncorhynchus kisutch* (174 µg/L) y trucha café (101 µg/L); microcrustáceos como *Daphnia pulex* y *Daphnia magna* CE 50 de 1,8 µg/L y 1,0 µg/L respectivamente y moluscos *Crassostrea virginica* y *Callinectes sapidus* mayores de 1000 µg/L.

---

<sup>69</sup> PATHIRATNE, A. and GEORGE, S. Toxicity of malathion to nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and modulation by other environmental contaminants. *Aquatic Toxicology*. Amsterdam. Vol. 43, (1998). p. 264

<sup>70</sup> Ibid., p. 267

<sup>71</sup> BOENING, D. W. Ecological effects, transports, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*. Vol. 40, (2000). p. 1342-1343

<sup>72</sup> SHAO-NAN, L and DE-FANG, F. Correlation between biochemical parameters and susceptibility of freshwater fish to malathion. *Journal Toxicology Environmental Health*, Washington. Vol. 48, (1996). p. 416

<sup>73</sup> MANI, V. G. and KONAR, S. K. Acute toxicity of malathion to fish, plankton and worm. *Environ. Ecol*. Vol. 2, (1984). p. 248

<sup>74</sup> BINDER, R.; MELANCONM, and LECH, J. Factors influencing the persistence and metabolism of chemicals in fish. *Drug Metab Rev*. Vol. 15, (1984). p. 704 - 705

<sup>75</sup> MAYER, F. L Jr and ELLERSIECK, M. R. Manual of acute toxicity: Interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. Washington, DC, US Department of the Interior Fish and Wildlife Service. 1986. p. 53

Comparado con los salmónidos, la tilápia nilótica y en general los cíclidos debido a su rusticidad, aceptan mayor cantidad de producto para producir el mismo efecto.

Tabla 16. CL50 de diferentes insecticidas organofosforados y productos de su oxidación en killifish, *Oryzias latipes*

Agrotóxico	CL50- 48 Hrs (mg/L)	
	24 Hrs	48 Hrs
Diazinon	6,8	4,4
Diazinon oxon	0,42	0,22
<b>Malathion</b>	<b>2,4</b>	<b>1,8</b>
<b>Malaoxon</b>	<b>0,45</b>	<b>0,28</b>
Fenitrothion	3,5	3,5
Fenitrothion oxon	9,3	6,8
EPN	0,65	0,58
EPN oxon	0,21	0,16

TSUDA, T.; KOJIMA, M.; HARADA, H.; NAKAJIMA, A. Y AOKI, S. Acute toxicity, accumulation and excretion of organophosphorous insecticides and their oxidation products in killifish. *Chemosphere*, Vol. 35, No. 5. (1997). p. 947

También es importante reportar valores para el zoopláncton (Tabla 17), que son la base de la cadena alimenticia que puede ser utilizado para la alimentación y normal crecimiento y desarrollo de diversas especies con potencial acuícola.

Tabla 17. CE50 para diferentes especies de invertebrados.

Especie	CE50 para el Malathion (µg/L)		
<i>Tigriopus brevicornis</i> .	Nauplio	: 7,2	Forget et al. 1998 <sup>76</sup>
	Copepodito	: 20,5	
	Hembra ovígera	: 24,3	
<i>Palaemonetes pugio</i>	Estadio VI	: 55,53	Lund et al. 2000 <sup>77</sup>
	Estadio VII	: 29,93	
<i>Palaemonetes pugio</i>	Eclosionadas	: 9,06	Key et al. 1998 <sup>78</sup>
	Larvas de 18 días	: 13,24	
	Adultos	: 38,19	

<sup>76</sup> FORGET, J.; PAVILLON, J. F.; MENASRIA, M and BOCQUENE, G. Mortality and LC50 Values for Several Stages of the Marine Copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) Exposed to the Metals Arsenic and Cadmium and the Pesticides Atrazine, Carbofuran, Dichlorvos, and Malathion. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 40, (1998). p. 240

<sup>77</sup> LUND, S.; FULTON, M and KEY, P. The sensitivity of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, embryos to organophosphate pesticide induced acetylcholinesterase inhibition. *Aquatic Toxicology*. Vol. 48, (2000). p.131

La información suministrada presenta concentraciones de toxicidad aguda inferiores a los obtenidos en este trabajo para *O. niloticus*. Entonces se puede deducir que los niveles superiores de la cadena alimenticia generalmente en los primeros estadios serán duramente afectados si el malathion un insecticida de amplio espectro cae de forma accidental o deliberada en un cuerpo de agua, debido a que acabaría con cualquier tipo de vida macro y microinvertebrada.

Para van Vuren<sup>79</sup>, la contaminación del agua que es debida a la presencia de agentes tóxicos (pesticidas), o por metales pesados ha sido considerada uno de los factores responsables de las variaciones hematológicas en los individuos, como también la aparición de anomalías vertebrales asociadas a las exposiciones de los mismos<sup>80</sup>.

Ranzani-Paiva et al<sup>81</sup>, evaluando el efecto del trichlorfon en la sangre de *Prochilodus scrofa*, constato que este organofosforado disminuye todos los valores de la serie roja a excepción del Volumen Corpuscular Medio o VCM que aumento; en la serie blanca, los valores se redujeron (linfocitos) y ausencia de neutrófilos. Tavares-Dias et al<sup>82</sup>, observó reducción de hematocrito y hemoglobina con respecto al grupo control en Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), después de haber sido tratado con malathion para el control de la infestación del parásito externo *Argulus sp.*

Para las pruebas de sensibilidad (Anexo D), con el fin de verificar el estado de salud de los animales, realizadas con dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) grado analítico, el valor de la CL50 fue:

CL50 <sub>96 Hrs</sub> mg/L de $K_2Cr_2O_7$	Prueba 1	Prueba 2
	162,67	151,60
LI – LS (95%)	150,31-176,05	140,09-164,06

Los signos clínicos y cambios en el comportamiento de los diferentes bioensayos son presentados en el Anexo E.

<sup>78</sup> KEY, P.; FULTON, M.; SCOTT, G.; LAYMAN, S. Y WIRTH, E. Lethal and sublethal effects of malathion on three life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Aquatic Toxicology*. Vol. 40, (1998). p. 315

<sup>79</sup> van VUREN, J. The effects of toxicants on the haematology of *Labeo umbratus* (Teleostei: Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and physiology*. Vol. 83. C1, (1986). p. 157-158

<sup>80</sup> ROBERTS, R. Fish Pathology. 3<sup>rd</sup> Ed. W.B. SAUNDERS. 2001. p.128

<sup>81</sup> RANZANI PAIVA, M.; RODRIGUES, E.; EIRAS, A.; VEIGA, M e PACHECO, F. Alterações hematológicas em curimatá, *prochilodus scrofa* Steindachner, 1881, exposto ao diptirex 500 (Trichlorfon). *Boletim do Instituto de Pesca*. Vol. 24 (1997). p. 201-202. Especial

<sup>82</sup> TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M and KRONKA, S. Evaluation of the hematological parameters in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes: Characidae) with argulus sp. (Crustacea: Branchiura) infestation and treatment with organophosphate. *Revista Brasileira de Zoologia*. Vol. 16, No 2, (1999). p. 553-555

### 6.3 RESIDUO DE MALATHION EN EL AGUA

**6.3.1 Repetibilidad de inyecciones cromatográficas de malathion.** Los valores de área de las 11 inyecciones de la solución estándar de 1,0 ppm para verificar la repetibilidad del equipo para las muestras de malathion son presentados en la tabla 18.

Tabla 18. Áreas de solución patrón de 1 ppm.

85907	79287	83798
81891	86203	82478
88171	85397	77937
85032	82379	

Con estos datos, se obtuvo:

Media	83498
Desviación estándar	3074
Coefficiente de variación	3,6 %

El autosampler presenta un coeficiente de variación bajo, el cual según el fabricante es aceptable.

**6.3.2 Calculo del límite de detección y cuantificación.** Con los datos obtenidos en el anterior numeral se aplicó las fórmulas descritas en la metodología y se obtuvo para el límite de detección el valor de 0,01 mg/L (ver numeral 5.8.2) y para el límite de cuantificación un valor de 0,03 mg/L (ver numeral 5.8.3), siendo apta la columna para la cuantificación de las muestras.

**6.3.3 Elaboración de la curva de calibración del malathion.** Después de haber realizado las cuatro inyecciones para cada una de las curvas analíticas (0,25 – 4,0 ppm) en acetato de etilo grado HPLC, y establecer las áreas de los picos, resultando en la siguiente curva de calibración:

Figura 22. Curva de calibración de malathion.

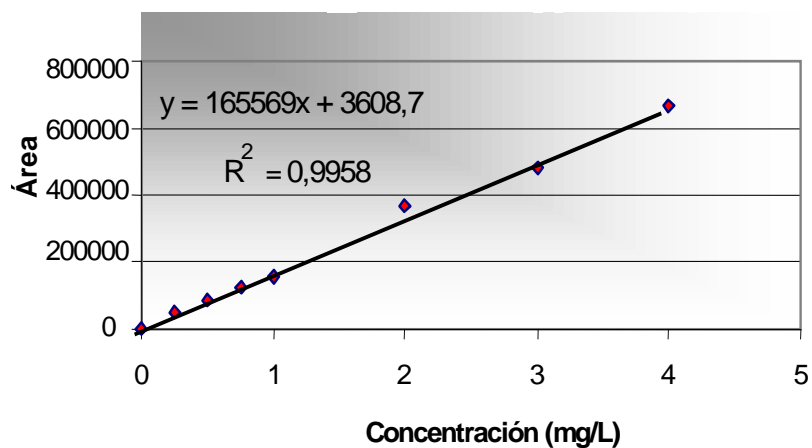
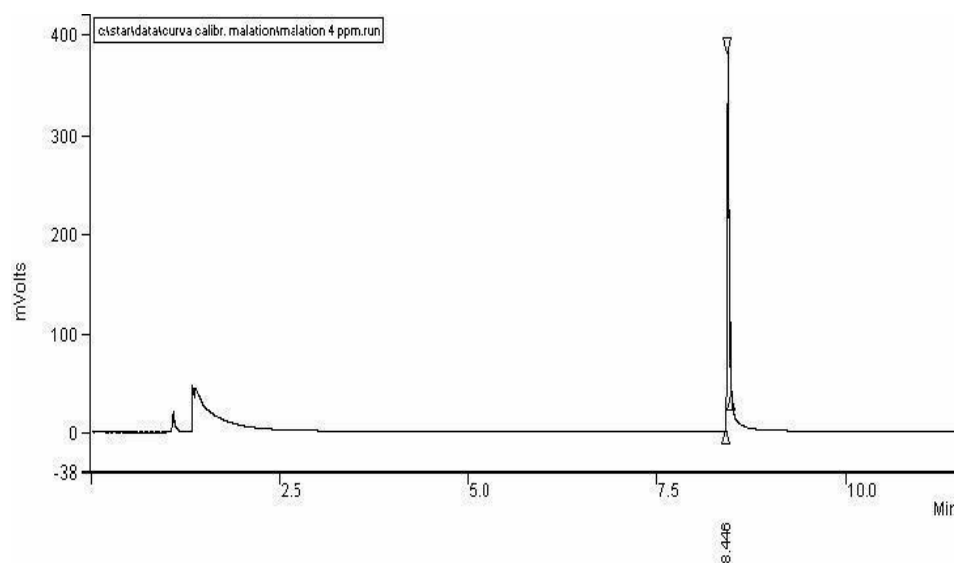


Figura 23. Cromatograma de solución malathion 4 ppm.



**6.3.4 Cálculo del porcentaje de recuperación de malathion.** En la tabla 19 el resultado de recuperación obtenido, utilizando estandarización externa en el cálculo de la concentración. Los resultados obtenidos de recuperación están dentro de la faja aceptable por las buenas prácticas de laboratorio.



Tabla 19. Recuperación de malathion en solución acuosa.

Concentración original (mg/L)	Concentración encontrada (mg/L) n=3	Recuperación media (%)
2,5	2,35	94

**6.3.5 Límite de confianza para el tiempo de retención.** Para obtener los valores de los límites de confianza del tiempo de retención para el malathion se tomó los valores del Anexo F.

$\mu$  : 8,447  
T student : 2,23  
S : 0,006  
 $\sqrt{n}$  : 3,317

Obteniéndose:

LC Superior : 8,451 minutos  
LC Inferior : 8,442 minutos

Sé encontró que todos los valores de las inyecciones para los ensayos de 12 y 24 horas están dentro del intervalo de confianza (Anexo G).

Los resultados de concentración final de cada uno de los tratamientos después de 12 y 24 horas se presentan en las figuras 24 a 27.

Figura 24. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 12 horas sin sedimento.

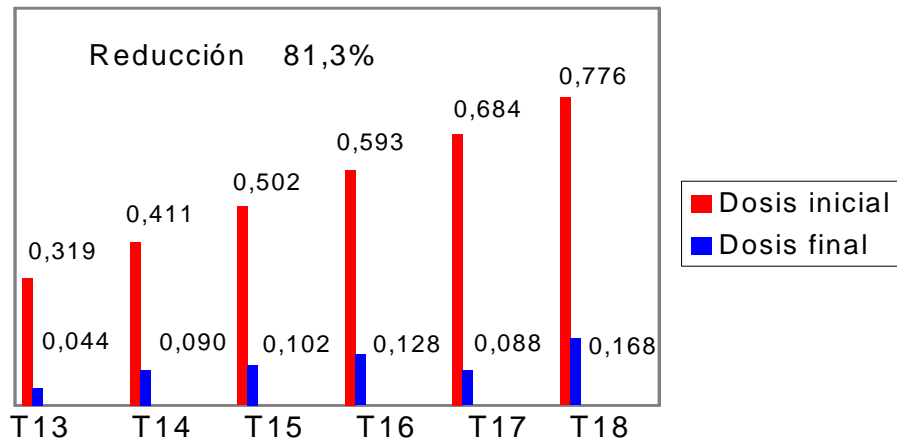


Figura 25. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 24 horas sin sedimento.

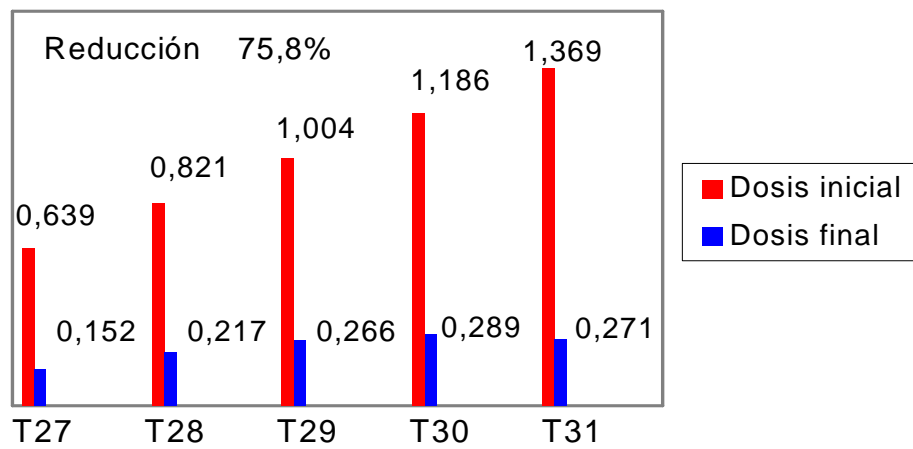


Figura 26. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 12 horas con sedimento.

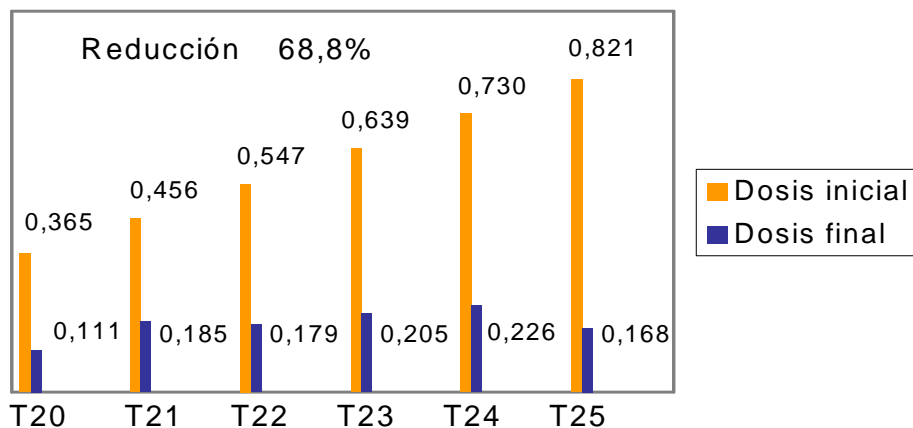
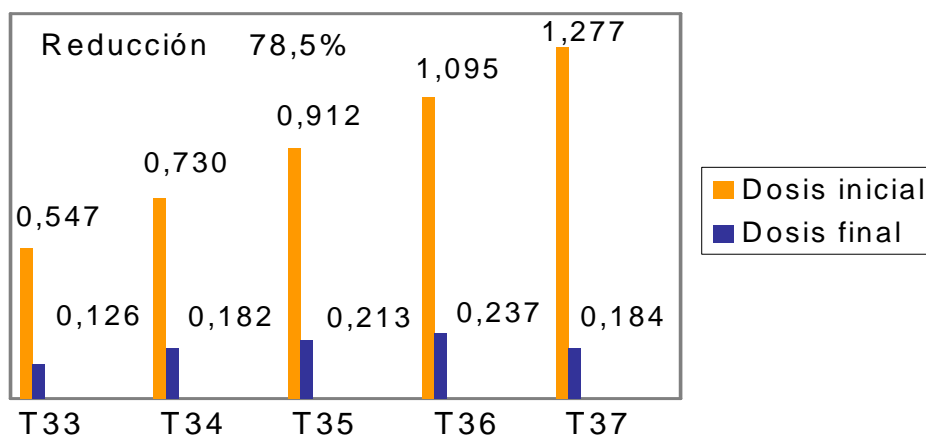


Figura 27. Concentración inicial vs concentración final para el ensayo 24 horas con sedimento.



Después de terminados los ensayos los organismos que fueron seriamente afectados, al cabo de dos o tres días exhibían un comportamiento normal, semejante a los del grupo control y donde De Guise et al<sup>83</sup>, aseguran que el malathion es degradado rápidamente en el cuerpo, con una reducción del 65-77% después de 24 horas y del 83-96% de pérdida a los tres días de ser aplicado. A los cinco días este no es detectado en los tejidos de *Homarus americanus*.

<sup>83</sup> DE GUISE, S.; MARATEA, J and PERKINS, C. Malathion immunotoxicity in the American lobsters (*Homarus americanus*) upon experimental exposure. *Aquat. Toxicol.* Vol. 66, No. 4, (2004). p. 422-424

Lopera, citado por el MINAMBIENTE<sup>84</sup>, comparan diferentes alternativas más asequibles para la adsorción en los acueductos destinados para agua de consumo humano (Tabla 20). Actuando como un catalizador el sedimento utilizado en los ensayos con *O. niloticus*, si bien presentan porcentajes de remoción más bajos (68,8% y 78,5%), se puede decir que eliminan una gran cantidad de malathion.

Tabla 20. Evaluación de alternativas de adsorción de plaguicidas.

Material	% Adsorción Malathion	% Adsorción Endosulfan
Ladrillo	86	89
Carbón Vegetal	99	99,9
Mármol	99	98,6
Andisol	93	95

LOPERA, 1995. En: MINAMBIENTE. Informe Nacional "Reducción del escurrimiento de plaguicidas al mar caribe" proyecto GEF PDF-B. PNUMA-UCR/CAR. Colombia, Noviembre 2000. p. 80

Para Brock et al<sup>85</sup>, y Racke<sup>86</sup>, la adsorción en la materia orgánica constituye el principal mecanismo no degradativo para la remoción del clorpirifos presente en la columna de agua; en este sentido, Hughes et al<sup>87</sup>, observaron que el 90% del clorpirifos disuelto en la columna de agua es atrapado por el sedimento en un tiempo comprendido entre 2 a 10 días. Mientras que Smith et al<sup>88</sup>, en un estudio hecho con *Carassius auratus*, observaron que la presencia de materia orgánica limitaba la bioacumulación del organofosforado clorpirifos.

Cuanto mayor es la solubilidad en agua del plaguicida, mayor es la cantidad del mismo que puede ser transportado en disolución. Para una solubilidad mayor a 30 ppm<sup>89</sup>, existe un riesgo potencial de que el plaguicida alcance el agua subterránea. El malathion tiene una solubilidad de 145 mg/L presentando peligro de lixiviación para aguas que en muchos casos puede ser utilizada en la actividad acuícola de casi cualquier especie.

<sup>84</sup> MINAMBIENTE. Op. cit, p. 80

<sup>85</sup> BROCK, T.; CRUM, S.; VAN WIJNGAARDEN, R.; BUDDE, B.; TIJINK, J.; ZUPELLI, A and LEEUWANGH, P. Fate and effects of the insecticide Dursban 4E in indoor *Elodea*-dominated and macrophyte free freshwater model ecosystems: fate and primary effects of the active ingredient chlorpyrifos. Arch. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 23, (1992). p. 78-81

<sup>86</sup> RACKE, K. Environmental fate of chlorpyrifos. J. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 131, (1993). p. 33

<sup>87</sup> HUGHES, D.; BOYER, M.; PAPST, M.; FOWLE, C.; REES G. A and BAULU, P. Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. Arch. Environ. Contam. Toxicol. Vol. 9, (1980). p. 275- 277.

<sup>88</sup> SMITH, G. Ultraviolet light decomposition studies with Dursban and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. Jour. Econ. Entomol. Vol. 61. p. 793-799. In: Eisler, R. Handbook of chemical risk assessment. Lewis Publishers. Vol. 3, (2000). p. 335

<sup>89</sup> MINAMBIENTE. Op. cit, p. 87

**6.3.6 Correlación entre las variables estudiadas.** Las variables pH, temperatura y oxígeno disuelto fueron correlacionadas con la concentración final de malathion con el programa estadístico SAS (anexo H).

Para la variable pH se cumple la condición expuesta por Miller et al<sup>90</sup>, Knuth y Heinis<sup>91</sup>, donde expresan la correlación negativa que existe entre este y la concentración final, mas de forma no significativa ( $p > 0,05$ ) con valor de  $-0,1523$ . Además, no concuerda con el comportamiento de oxígeno disuelto  $0,05653$  ( $p > 0,05$ ) y la temperatura  $0,42978$  ( $p < 0,05$ ).

La temperatura, el pH, la radiación solar y las concentraciones de cationes metálicos tienen una correlación negativa con el tiempo de vida medio del clorpirifos. Al respecto, se han reportado tiempos de vida medios comprendidos entre 0,08 y 5 días, para la columna de agua, y entre 0,8 y 16,3 días, para los sedimentos.

El comportamiento anormal presentado en las variables temperatura y oxígeno disuelto pudo deberse a que estas variables son fácilmente alterables por las condiciones de funcionamiento de equipo, el constante ingreso a la sala de bioensayos para el caso de temperatura que es regulada con equipo de aire acondicionado, mientras que el pH difícilmente se puede alterar por estos motivos.

Con características similares para el pH en los ensayos de *O. niloticus*, para *Ictalurus punctatus* en estudios de remoción se obtuvo:

Tabla 21. Degradación del malathion bajo diferentes pH y condiciones de agua.

	42 µg/L		51 µg/L		
	Agua de laboratorio	Agua de laboratorio	Agua de laboratorio	Agua de estanque	Agua de estanque y sedimento
	pH 7,0	pH 8,5	pH 7,0	pH 7,85	pH 7,85
0 horas	41	42	45	49	38
24 horas	23 (45,2%)	8,6 (79,5%)	33 (35,3%)	29 (43,1%)	23 (54,9%)
48 horas	5,2	1,1	27	21	16

HARRIS, F. Malathion fate in water and catfish. Mississippi agricultural & forestry experiment station. Technical Bulletin 225. 1999. p. 6-7

Con tilapia los porcentajes de pérdida son superiores de 81,3% y 75,8% para las pruebas sin sedimento, y 68,8% y 78,5% en presencia de sedimento interviniendo una reacción catalítica de tipo heterogénea, también causa el efecto de eliminar

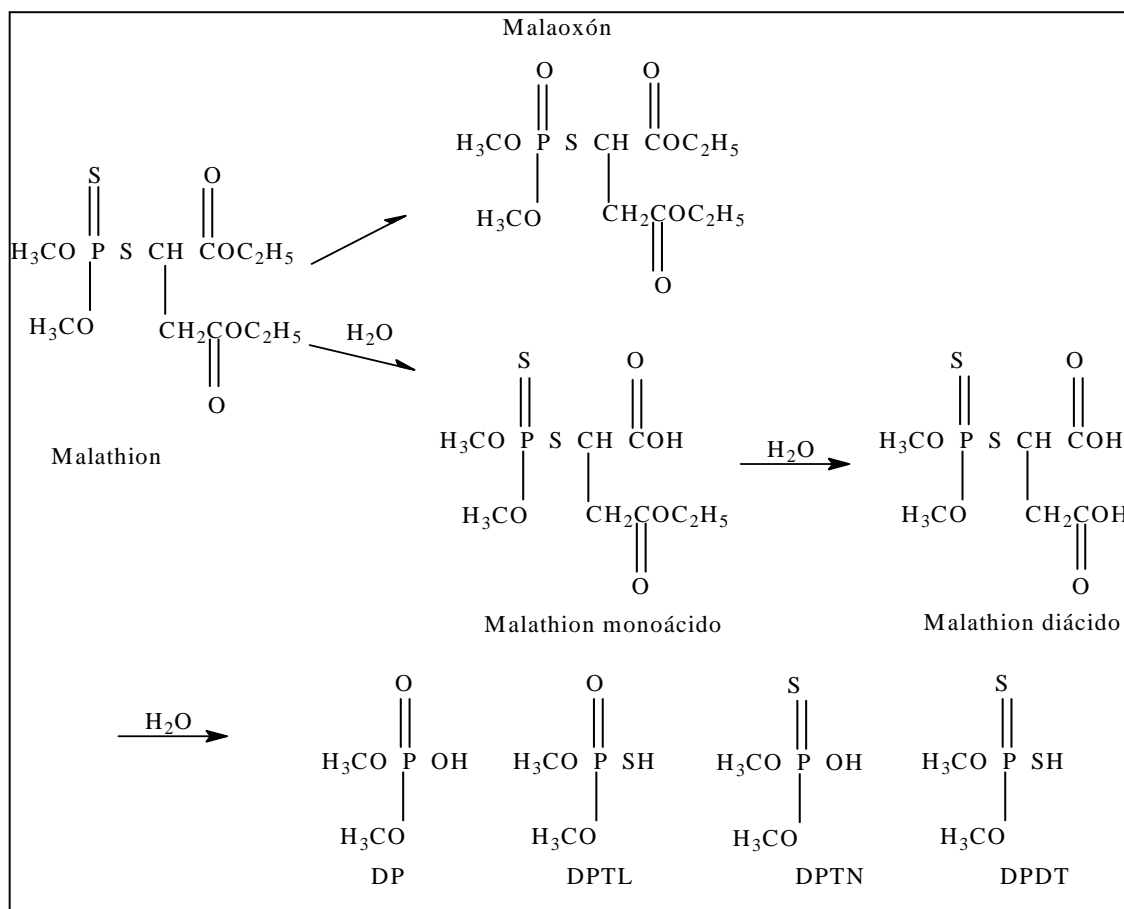
<sup>90</sup> MILLER, T.; NELSON, L.; YOUNG, W.; ROBERTS, L.; ROBERTS, D and WILKINSON, R. Op. cit, p. 58

<sup>91</sup> KNUTH, M and HEINIS, L. Op. cit, p. 12-14

malathion del sistema mas no en mayor cantidad que en la prueba a las 12 horas sin sedimento donde fue mayor la reducción.

También se observa que más cantidad de malathion se pierde a un pH mas alto en lo realizado por Pinto<sup>92</sup>, donde estudia la cantidad de reducción de tres dosis: 0,1, 0,5 y 1 mg/L después de 144 horas a pH 5 de 50,0%, 51,5% y 40,7% respectivamente, mientras que a pH 7 obtuvo una reducción de 66,0%, 76,2% y 69,2% en el mismo periodo de tiempo para las anteriores dosis respectivamente.

Figura 28. Diferentes vías de degradación del malathion.



NEWHART, K. Environmental fate of malathion. California, EPA. 2006. p. 4

<sup>92</sup> PINTO, J. Relatório: Risco de intoxicação ocupacional e domiciliar no controle químico da larva e do mosquito transmissor de dengue (*Aedes aegypti*). PROJETO 914BRA2000. CNPq/UNESCO/UNESP. Jaboticabal, Brasil: 2005. pp. 22-28

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 7.1 CONCLUSIONES

Los alevinos de *Oreochromis niloticus* resultaron altamente sensibles para las pruebas de toxicidad aguda con el organofosforado malathion y sanidad con dicromato de potasio.

No se observó mortalidad en los grupos control para las pruebas con sedimento por tanto se puede asegurar que el factor sólidos suspendidos no afecta en el desarrollo de los ensayos.

Las CL50-96 horas con el organofosforado malathion fueron para los ensayos sin sedimento de 0,2742 mg l<sup>-1</sup>, 0,5695 mg l<sup>-1</sup> y 0,8381 mg l<sup>-1</sup>; para los ensayos con sedimento: 0,3462 mg l<sup>-1</sup>, 0,6087 mg l<sup>-1</sup> y 0,9821 mg l<sup>-1</sup>, transcurridas 0,12 y 24 horas después de la exposición de los animales al malathion respectivamente, evidenciando que la cantidad que se debe utilizar con el correr del tiempo debe ser mayor para producir un mismo efecto.

Con estos resultados el malathion puede ser clasificado como un producto altamente tóxico para tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* pudiendo ofrecer un gran riesgo ambiental.

Las diferencias porcentuales de las CL50 calculadas a favor de las pruebas con presencia de sedimento fueron de 26,2%, 6,88% y 17,1% para los ensayos a las 0,12 y 24 horas después de la exposición de los animales al malathion.

Los valores de reducción promedio de malathion en el agua fueron para el ensayo de 12 horas de 81,3% ausencia y 68,8% presencia de sedimento; para el ensayo de 24 horas de 75,8% en ausencia y 78,5% en presencia de sedimento.

El pH presenta correlación negativa contra la concentración final, -0,1523 ( $p > 0,05$ ), igual para el oxígeno disuelto 0,05653 ( $p > 0,05$ ). Presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la temperatura 0,42978.

## 7.2 RECOMENDACIONES

Evaluar tanto la parte histopatológica, hematología, como también la alteración en los niveles de la enzima acetilcolinesterasa para el producto malathion en tilapia nilótica.

Analizar nuevas fuentes de sedimento y nuevos tiempos a los cuales los peces son colocados en contacto con el agrotóxico, observando la diferencia entre las CL50 calculadas.

Estudiar nuevas especies nativasw promisorias tanto de agua dulce como de agua salada y productos, determinando su potencial deletéreo sobre el medio ambiente donde se realiza la actividad acuícola y los sectores circundantes.

Elaborar ensayos toxicológicos crónicos e implementar investigaciones con nuevos sistemas como microcosmos y/o mesocosmos para observar la interacción entre las diferentes variables en el medio acuático y los organismos hidrobiológicos, tratando de dar un ambiente lo más parecido al medio natural.

Desarrollar investigación en el diseño y la construcción de filtros o implementación de la acuiponia como posibles soluciones para la eliminación de insecticidas y posible re-utilización del agua para cultivos.

Promover en el sector agropecuario principalmente el área de acuicultura sobre la adopción, apropiación y desarrollo de tecnologías limpias en los diferentes sistemas cultivos utilizados para evitar la polución de los cuerpos de agua.

Buscar nuevas alternativas para el control tanto de plagas, enfermedades y reducción de la polución de los cuerpos de agua mediante la utilización de biopesticidas como los extractos de plantas, en los sistemas de producción acuícola.

Escoger el modelo del presente trabajo para implementar estudios toxicológicos en la región.



## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCESTE, C y WURMANN, C. La tilápia: el nuevo gigante de la acuicultura mundial y su mercado en los Estados Unidos. En: Revista AQUA. Número 90. 2004. pp. 70 -77

APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION). Standard Methods for the water and wastewater, 17 ed. Washington D. C: 1991. p. 81-143

BAPTISTA, G.C. Introdução e ocorrência de defensivos agrícolas no meio ambiente. Brasília: MEC/ABEAS, 1988. p. 17

BINDER, R.; MELANCON, M and LECH, J. Factors influencing the persistence and metabolism of chemicals in fish. *Drug Metab Rev.* Vol. 15, (1984). pp. 679 - 722

BERTOLETTI, E. Ensaio biológicos com organismos aquáticos a e sua ação no controle da poluição. São Paulo: *Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental*, 1990. p. 50

BLOOMQUIST, J. Insecticidas: Químicas y características. 1996. p. 17

BOENING, D. W. Ecological effects, transports, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere.* Vol. 40, (2000). pp. 1335-1351

BORNEMISZA, E. Introducción a la química de suelos. Secretaria General de la OEA. Washington D.C. 1982. p. 74

BROCK, T.; CRUM, S.; VAN WIJNGAARDEN, R.; BUDDE, B.; TIJINK, J.; ZUPELLI, A and LEEUWANGH, P. Fate and effects of the insecticide Dursban 4E in indoor *Elodea*- dominated and macrophyte free freshwater model ecosystems: fate and primary effects of the active ingredient chlorpyrifos. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 23, (1992). pp. 69-84

BURTON Jr., G. A. Plankton, macrophyte, fish and amphibian toxicity testing of freshwater sediments. In: BURTON, A. G. Sediment toxicity assessment. Londres: Lewis Publishers, 1992. pp. 167-182

BURTON, G & LANDRUM, P. Toxicity of sediments. In: Encyclopedia of sediments and sedimentary. Kluwer Academic. 2004. p. 748-751

CARLSON, G. Pesticides and Pest Management In: Carlson, Zilberman and

Miranowski. *Agricultural and Environmental Resource Economics*. Oxford University: Llon, 1993. p. 125

CHARMICHAEAL, W. W. Freshwater blue green algae, (cyanobacteria) toxins- A review. New York: Ed. Plenum Press. Vol. 1 (1981). p. 47

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Água–teste de toxicidade aguda com peixes: parte I sistema estático. Em: Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos. São Paulo: 1999. p. 29

CIHACEK, L.. J.; ANDERSON, W. L and BARAK, P. W. Linkages between soil quality and plant, animal and human health: Methods for assessing soil. Quality SSSA, USA. 1996. p. 49 (Special Publication)

CHAPMAN, G.; CAIRNS, M.; KRAWCZYK, D.; MALUEG, K.; NEBEKER, A and SCHUYTEMA, G. Report on the toxicity and chemistry of sediment from Toronto and Toledo harbors. En: Evaluation of sediment bioassessment techniques. Report of the dredging subcommittee to the Great Lakes Water Quality Board. International Joint Commission, Windsor, Ontario, 1986. p. 123

DE GUISE, S.; MARATEA, J and PERKINS, C. Malathion immunotoxicity in the American lobsters (*Homarus americanus*) upon experimental exposure. *J. Aquat. Toxicol.* Vol. 66, No. 4, (2004). pp. 419-425

ESPINOSA, J. Muestreo para el Control de la Calidad de Plaguicidas Agrícolas. Panamá. 2003. p. 55

FINNEY, D.Y. Probit Analysis. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge: University Press. 1971. p. 270

FITZSIMMONS, K. Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. In: COSTA-PIERCE, B e RAKOCK, J. Tilapia aquaculture in the Americas. *World Aquaculture Society*. Vol. 2, (2000). pp. 252-264

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION. Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. Roma: FAO, 1986. p. 31

FORGET, J.; PAVILLON, J. F.; MENASRIA, M y BOCQUENE, G. Mortality and LC50 Values for Several Stages of the Marine Copepod *Tigriopus brevicornis* (Müller) Exposed to the Metals Arsenic and Cadmium and the Pesticides Atrazine, Carbofuran, Dichlorvos, and Malathion. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol. 40, (1998). pp. 239–244

GIESY, J.; SOLOMON, J.; COATS, J.; DIXON, K.; GIDDINGS, J. and KENAGA, E. Chlorpyrifos: Ecological Risk Assessment in North American Aquatic

Environments. *J. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 160, (1999). p. 129

HAMILTON, M. A; RUSSO, R and THRUSTON R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 12, No. 4, (1978). p. 417

HARRIS, F. Malathion fate in water and catfish. Mississippi agricultural & forestry experiment station. Technical Bulletin 225. 1999. p. 10

HONTELA, A.; DUMONT, P.; DUCLOS, D and FORTIN, R. Endocrine and metabolic dysfunction in yellow perch, *Perca flavescens*, exposed to organic contaminants and heavy metals in the St. Lawrence River. *Arch. Environmental Contamination and Toxicology.* New York. Vol.14, (1993). pp. 725-731

HUGHES, D.; BOYER, M.; PAPST, M.; FOWLE, C.; REES G. A and BAULU, P. Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 9, (1980). pp. 269-279

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Avaliação da toxicidade aguda para peixes. Em: Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos. Brasília: 1987. p. 128

IWAMA, G.; VIJAYAN, M.; MORGAN, J. The stress response in fish. Em: SAKSENA, D. Ichthyology. Recent research advances, Enfield, USA: *Science publishers, Inc.* 1999. pp. 47-57

JONSSON, C e MAIA, A. Toxicidade dos herbicidas Clomazone e Quinclorac para o invertebrado aquático *Daphnia similis* na presença e ausência de sedimento. *Pesticidas Rev. Ecotoxicol Meio Ambiente*, Curitiba. Vol. 9, (1999). pp. 145-153

KENNETH, R. Análisis instrumental. España: Pearson Educación, 2001. p. 430

KEY, P.; FULTON, M.; SCOTT, G.; LAYMAN, S. Y WIRTH, E. Lethal and sublethal effects of malathion on three life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Aquatic Toxicology.* Vol. 40, (1998). pp. 311–322

KIME, D. Endocrine disruption in fish. Kluwer academic publishers. 1998. p. 480

KNIE, J. L & LOPES, W. E. 2004. Testes ecotoxicológicos métodos técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ. p. 289

KNUTH, M and HEINIS, L. Dissipation and persistence of chlorpyrifos within littoral enclosures. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 40, (1992). pp. 1257-1263. In: GIESY, J., SOLOMON, J., COATS, J., DIXON, K., GIDDINGS, J and KENAGA, E.

Chlorpyrifos: Ecological Risk Assessment in North American Aquatic Environments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 160. (1999). p. 167

KOVAI, N.; PROSEN, H and ZUPANI-KRALJ, L. Determination of triazines and atrazine metabolites in soil by microwave assisted solvent extraction and high pressure liquid chromatography with photo-diode-array detection. *Acta Chim. Slov.*, Vol. 51(2004) pp. 395-407

KUBITZA, F. Tecnologia e planejamento na produção comercial de tilápia. Editor F. KUBITZA, 2000. p. 287

LOMBARDI, J. Toxicologia aquática. Em: Sanidade dos organismos aquáticos. Editorial Varela. 2002. p. 425

LOOMIS, T. Aspectos cuantitativos de la toxicología. En: Fundamentos de toxicología. Ed. Acribia. 1982. p. 274

LUND, S.; FULTON, M. y KEY, P. The sensitivity of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, embryos to organophosphate pesticide induced acetylcholinesterase inhibition. *Aquatic Toxicology*. Vol. 48, (2000). pp. 127–134

MAYER, F. L Jr and ELLERSIECK, M. R. Manual of acute toxicity: Interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. Washington, DC, US Department of the Interior Fish and Wildlife Service. 1986. p. 160

MANI, V. G and KONAR, S. K. Acute toxicity of malathion to fish, plankton and worm. *Environ. Ecol.* . Vol. 2, (1984). pp. 248-250

MELO, I e AZEVEDO, J. Microbiología ambiental. Jaguariúna: *Embrapa*, 1997. p. 440

MESTRES, R. El análisis de los residuos tóxicos, su interés y sus límites; ejemplos de residuos de pesticidas. En: toxicología y seguridad de los alimentos. Ed Omega. 1990. p. 491

MILLER, T.; NELSON, L.; YOUNG, W.; ROBERTS, L.; ROBERTS, D and WILKINSON, R. Polymer formulations of mosquito larvicides. I. Effectiveness of polyethylene and polyvinyl chloride formulations of chlorpyrifos applied to artificial field pools. *Mosquito News*. Vol. 33, No. 2, (1973). pp. 148-155. In: GIESY, J., SOLOMON, J., COATS, J., DIXON, K., GIDDINGS, J and KENAGA, E. Chlorpyrifos: Ecological Risk Assessment in North American Aquatic Environments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 160. (1999). p. 129

MINAMBIENTE. Informe Nacional “Reducción del escurrimiento de plaguicidas al mar caribe” proyecto GEF PDF-B. PNUMA-UCR/CAR. Colombia, Noviembre, 2000. p. 119

MURILLO, D. Testes de toxicidade para peixes. Em: Workshop sobre qualidade de água na aqüicultura. 2000. p. 63 – 68

MURPHY, S. D. Toxic effects of insecticides. In: KLAASSEN, C.; AMDUR, M and DOULL, J. (Eds) *Toxicology, the basic science poisons*. 3ra Ed. 1986. p. 519 – 581

MURTY, A. Toxicity of pesticides to fish. CRC Press. Vol. 2. (1988). p. 165

NEWHART, K. Environmental fate of malathion. California EPA. 2006. p. 20

NIMMO, D. R. Pesticides. In: RAND, G.M and PETROCELLI, S.R. (Ed.). *Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications*, New York: *Hemisphere*, 1985. pp. 335-373

NOGA, E. J. Fish diseases: diagnosis and treatment. St. Louis, Mosby: North Carolina State University, College of Veterinary Medicine, 1996. p. 367

PATHIRATNE, A. and GEORGE, S. Toxicity of malathion to nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and modulation by other environmental contaminants. *Aquatic Toxicology*. Amsterdam. Vol. 43, (1998). pp. 261-271

PAVANELLI, C.; EIRAS, J e TAKEMOTO, R. Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá: EDUEM. 1998. p. 264

PINTO, J. Relatório: Risco de intoxicação ocupacional e domiciliar no controle químico da larva e do mosquito transmissor de dengue (*Aedes aegypti*). PROJETO 914BRA2000. CNPq/UNESCO/UNESP. Jaboticabal, Brasil: 2005. p. 49

RACKE, K. Environmental fate of chlorpyrifos. *J. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 131, (1993). p. 154

RAMÍREZ, A. Fundamentos cuantitativos para realizar ensayos biológicos y pruebas de toxicidad: Curso Regional de Entrenamientos INDERENA /PNUMA/PAC/FAO/COI sobre ensayos biológicos y pruebas de toxicidad en el Gran Caribe III. Cartagena. 1989

RAND, G. M and PETROCELLI, S. R. *Fundamentals of aquatic toxicology*. Washington: *Publishing Hemisphere*, 1985. p. 665

RANZANI PAIVA, M.; RODRIGUES, E.; EIRAS, A.; VEIGA, M.; PACHECO, F. Alterações hematológicas em curimatá, *prochilodus scrofa* Steindachner, 1881, exposto ao dipterex 500 (Trichlorfon). *Boletim do Instituto de Pesca*. Vol. 24 (1997). pp. 197-203. Especial

RESENDE, E. K. de. Influência das atividades antrópicas sobre os peixes da bacia hidrográfica do rio Miranda, período de 1985 a 1987. Corumbá, MS: EMBRAPA-CPAP, Documento 15. 1995. p. 30

REYNOLDSON, T and DAY, K. Freshwater sediments. Blackwell Scientific Publication. Vol. 1, (1993). pp. 83- 100

ROBERTS, R. Fish Pathology. 3<sup>rd</sup> Ed. W.B. SAUNDERS. 2001. p. 472

RODRIGUES, E.D.L.; RANZANI-PAIVA, M.J.; PACHECO, F.J e VEIGA, M.L. Efeito agudo do organofosforado Dipterex 500 (Trichlorfon) em baço de curimatá *Prochilodus scrofa* (STEINDACHNER, 1881). Pirassununga: B. CEPTA. No. 24, (1997). pp. 197-203

ROMERO, L.; CRUZ, C e MACHADO-NETO, J. Efeito da presença de sedimento na toxicidade aguda do sulfato de cobre e do trichlorfon para tres especies de *Daphnia*. *Pesticidas Rev. Ecotoxicol Meio Ambiente*, Curitiba. Vol. 15, (2005). pp. 55-64

SHAO-NAN, L and DE-FANG, F. Correlation between biochemical parameters and susceptibility of freshwater fish to malathion. *Journal Toxicology Environmental Health*, Washington. Vol. 48, (1996). pp. 413-418

SKOOG, D.; WEST, D y HOLLER, F. Química analítica. 6<sup>ta</sup> ed. Mc GRAW-HILL. 1998. p. 612

SKOOG, D y LEARY, J. Análisis instrumental. Ed. Mc GRAW-HILL. 1995. p. 935

SMITH, G. Ultraviolet light decomposition studies with Dursban and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol. *Jour. Econ. Entomol.* Vol. 61. p. 793-799. In: Eisler, R. Handbook of chemical risk assessment. Lewis Publishers. Vol. 3, (2000). pp. 450

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

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M and KRONKA, S. Evaluation of the hematological parameters in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes: Characidae) with argulus sp. (Crustacea: Branchiura) infestation and treatment with organophosphate. *Revista Brasileira de Zoologia*. Vol. 16, No 2, (1999). pp. 553-555

TREWAVAS, G. Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Mu. Nat. Hist. London, UK. 1983. p. 583

TSUDA, T.; KOJIMA, M.; HARADA, H.; NAKAJIMA, A. Y AOKI, S. Acute toxicity, accumulation and excretion of organophosphorous insecticides and their oxidation products in killifish. *Chemosphere*. Vol. 35, No. 5, (1997). pp. 939-949

USEPA (Environmental Protection Agency). Method 8141<sup>a</sup>. Organophosphorus compounds by gas chromatography capillary column technique. 1994. p 35

VAL, L.; da SILVA. e ALMEIDA -VAL, V. Estresse em peixes – Ajustes fisiológicos e distúrbios Orgânicos. Em: Ranzani-Paiva, M.; Takemoto, R.; Lizama, M. Sanidade dos organismos aquáticos. Editora Varela, 2004. p. 470

V. Catálisis heterogénea. (online). (Mexico), 21 diciembre 2006. Disponible en: [http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/htm/sec\\_8.htm](http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/059/htm/sec_8.htm)

VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A, e BORGHETTI, J. R. Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPQ / Ministério da Ciência e tecnologia. 2000. p. 339

van VUREN, J. The effects of toxicants on the hematology of *Labeo umbratus* (Teleostei: Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and physiology*. Vol. 83. C1, (1986). pp. 155-159

VINATEA-ARANA, L.A. Princípios químicos de qualidade da água em Aqüicultura: uma revisão para peixes e camarões. Florianópolis: Editora UFSC, 2004. p. 231

ZIMMERMANN, S e FITZSIMMONS, K. Tópicos especiais em piscicultura de água doce intensiva. Em: Cyrino, J.; Urbinati, E; Fracalossi, D; Castagnolli, N. 2004. p. 533

# ANEXOS



**ANEXO A. Muestreo para determinar peso y talla promedio de tilapia nilótica  
*Oreochromis niloticus*.**

	<b>Peso (g)</b>		<b>Talla (cm)</b>	
	0,79	3,2	2,3	5,1
	0,85	1,22	2,3	2,6
	1,22	0,88	3	2,9
	0,79	1,02	2,4	3
	0,66	1,05	2,3	3,1
	1,2	1,3	3	3
	0,58	3,9	2,2	5
	0,5	0,99	2,2	3
	1,02	1,04	2,4	3,5
	1,15	1,23	3,1	3,5
	0,98	0,95	2,4	2,5
	1,05	1,11	2,5	3
	0,95	2,8	2,8	4,7
	1,2	1,33	2,9	4,3
	1,07	1,24	2,5	3,9
	1,16	2,6	2,8	4,8
	1,01	1,19	2,6	2,9
	0,88	0,96	2,6	2,4
	0,97	1,17	2,7	3,9
	0,79	2,2	2	3,9
	1,1	1,37	2,7	4,4
	1,05	1,28	2,5	3,1
	0,96	1,56	2,5	5,8
	0,85	1,38	2,1	4,7
	0,99	1,2	2,3	3,1
<b>Media</b>	<b>1,24</b>		<b>3,10</b>	
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,63</b>		<b>0,90</b>	
<b>Varianza</b>	<b>0,40</b>		<b>0,81</b>	

## ANEXO B. Reportes electrónicos del programa "Trimmed Spearman Karber" para calculo de la CL50.

BURLINGTON RESEARCH, INC."

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS FOR REFERENCE, CITE"

M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.

TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.

ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719

CORRECTION 12(4) 417 (1978)

CHEMICAL Malathion CE 500 ESPECIES Oreochromis niloticus DURATION 96 Hours  
Test: 0 Horas sin sedimento

CONCENTRATION (mg/L)	0	0.21	0.25	0.30	0.34	0.39
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	0	3	6	8	9
SPEARMAN-KARBER TRIM						
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES			LC50	0.2742976		
95% LOWER CONFIDENCE			0.25			
95% UPPER CONFIDENCE			0.30			

CHEMICAL Malathion CE 500 ESPECIES Oreochromis niloticus DURATION 96 Hours  
Test: 0 Horas con sedimento

CONCENTRATION (mg/L)	0	0.30	0.33	0.36	0.38	0.41
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	0	4	5	7	9
SPEARMAN-KARBER TRIM						
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES			LC50	0.3462255		
95% LOWER CONFIDENCE			0.33			
95% UPPER CONFIDENCE			0.36			

BURLINGTON RESEARCH, INC."  
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS  
 FOR REFERENCE, CITE"  
 M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.  
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN  
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.  
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719  
 CORRECTION 12(4) 417 (1978)

CHEMICAL Malathion CE 500 ESPECIES Oreochromis niloticus DURATION 96 Hours  
 Test: 12 Horas sin sedimento

CONCENTRATION (mg/L)	0	0.32	0.41	0.50	0.59	0.68	0.78
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	0	0	2	5	8	9
SPEARMAN-KARBER TRIM							
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES			LC50 0.569531				
95% LOWER CONFIDENCE			0.53				
95% UPPER CONFIDENCE			0.62				

CHEMICAL Malathion CE 500 ESPECIES Oreochromis niloticus DURATION 96 Hours  
 Test: 12 Horas con sedimento

CONCENTRATION (mg/L)	0	0.37	0.46	0.55	0.64	0.73	0.82
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	0	1	3	4	7	9
SPEARMAN-KARBER TRIM							
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES			LC50 0.6087930				
95% LOWER CONFIDENCE			0.56				
95% UPPER CONFIDENCE			0.67				

BURLINGTON RESEARCH, INC."  
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR CALCULATION OF EC50 AND LC50 VALUES IN BIOASSAYS  
 FOR REFERENCE, CITE"  
 M.A. HAMILTON, R.C. RUSSO, AND R.V. THURSTON, 1977.  
 TRIMMED SPEARMAN-KARBER METHOD FOR ESTIMATING MEDIAN  
 LETHAL CONCENTRATIONS IN TOXICITY BIOASSAYS.  
 ENVIRON. SCI. TECHNOL. 11(7) 714-719  
 CORRECTION 12(4) 417 (1978)

CHEMICAL Malathion CE 500                    ESPECIES Oreochromis niloticus                    DURATION 96 Hours  
 Test: 24 Horas sin sedimento

CONCENTRATION (mg/L)	0	0.64	0.82	1.00	1.19	1.37
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	0	4	8	9	9
SPEARMAN-KARBER TRIM						
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES			LC50	0.8381189		
95% LOWER CONFIDENCE				0.77		
95% UPPER CONFIDENCE				0.91		

CHEMICAL Malathion CE 500                    ESPECIES Oreochromis niloticus                    DURATION 96 Hours  
 Test: 24 Horas con sedimento

CONCENTRATION (mg/L)	0	0.55	0.73	0.91	1.1	1.28
NUMBER EXPOSED	9	9	9	9	9	9
MORTALITIES	0	0	1	2	6	9
SPEARMAN-KARBER TRIM						
SPEARMAN-KARBER ESTIMATES			LC50	0.9821346		
95% LOWER CONFIDENCE				0.89		
95% UPPER CONFIDENCE				1.08		

**ANEXO C. Parámetros físico químicos del agua utilizada para los bioensayos.**

**Prueba de toxicidad 0 horas sin sedimento tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)- malathion**

0 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.205 ppm A	0.205 ppm B	0.205 ppm C	0.251 ppm A	0.251 ppm B	0.251 ppm C	0.297 ppm A	0.297ppm B	0.297 ppm C
pH	7,55	7,59	7,58	7,6	7,52	7,54	7,61	7,53	7,5	7,48	7,55	7,59
Cond.(uS/cm)	161,3	161	1617	162,4	161,5	162,9	162,7	163,1	160,9	162,4	161,2	162,3
O.D. (mg/L)	6,9	6,9	7,1	7	6,8	7	7	6,9	6,9	6,7	6,8	7
Temp. (°C)	26,3	25,9	26	26,1	26,1	26,2	26	26,1	26	26,2	26	25,8

0 horas	0.342 ppm A	0.342 ppm B	0.342 ppm C	0.388 ppm A	0.388 ppm B	0.388 ppm C
pH	7,61	7,55	7,53	7,6	7,62	7,65
Cond.(uS/cm)	162,1	163,7	163,8	162,4	163,5	160,1
O.D. (mg/L)	7	6,9	6,9	6,8	6,9	7
Temp. (°C)	25,9	26	25,8	26	25,8	25,9

24 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.205 ppm A	0.205 ppm B	0.205 ppm C	0.251 ppm A	0.251 ppm B	0.251 ppm C	0.297 ppm A	0.297ppm B	0.297 ppm C
pH	7,77	7,69	7,71	7,82	7,79	7,78	7,69	7,8	7,81	7,79	7,79	7,77
Cond.(uS/cm)	170,1	169,3	170	170,3	170,1	168,4	171,3	170,8	170,2	168,9	169,4	168,7
O.D. (mg/L)	7	7	7,1	7,2	7	7,4	7,2	7,3	7,2	7,3	7,4	7
Temp. (°C)	26,5	26,4	26,4	26,6	26,7	26,6	26,6	26,8	26,5	26,8	26,5	26,4

24 horas	0.342 ppm A	0.342 ppm B	0.342 ppm C	0.388 ppm A	0.388 ppm B	0.388 ppm C
pH	7,7	7,69	7,75	7,73	7,76	7,79
Cond.(uS/cm)	169,9	170,2	170,8	170,9	171,4	169,8
O.D. (mg/L)	7,4	7,1	6,9	7	7	7,1
Temp. (°C)	26,5	26,6	26,9	27	26,8	26,8

48 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.205 ppm A	0.205 ppm B	0.205 ppm C	0.251 ppm A	0.251 ppm B	0.251 ppm C	0.297 ppm A	0.297ppm B	0.297 ppm C
pH	7,95	8,01	8	7,97	7,97	7,99	7,88	7,99	7,93	7,88	7,9	7,8
Cond.(uS/cm)	183,6	182	181,3	180,1	182,3	180,5	182,4	180,4	180,2	180,3	180,6	182
O.D. (mg/L)	7,2	7,2	7,4	7,3	7,4	7,4	7,1	7,3	7,2	7	6,7	6,5
Temp. (°C)	26,5	26,5	26,7	26,6	26,6	26,7	26,5	26,4	26,8	26,8	26,7	26,9

48 horas	0.342 ppm A	0.342 ppm B	0.342 ppm C	0.388 ppm A	0.388 ppm B	0.388 ppm C
pH	7,92	7,79	8,02	7,96	7,98	7,94
Cond.(uS/cm)	179,5	179,7	179,1	179,1	178,2	178,4
O.D. (mg/L)	7,4	7,3	7,4	7,2	7,1	7,4
Temp. (°C)	26,8	26,9	26,8	26,5	26,4	26,6

72 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.205 ppm A	0.205 ppm B	0.205 ppm C	0.251 ppm A	0.251 ppm B	0.251 ppm C	0.297 ppm A	0.297 ppm B	0.297 ppm C
pH	7,9	7,95	7,93	7,9	7,78	7,9	7,77	7,71	7,87	7,78	7,77	7,66
Cond.(uS/cm)	187,1	184,6	184,1	183,6	186	182,7	186,2	182,8	182,6	183	183,1	187,1
O.D. (mg/L)	7,4	7,4	7,4	7,4	7,3	7,3	7,2	7,4	7,3	6,9	6,9	6,7
Temp. (°C)	26,5	26,7	26,8	27	26,5	26,7	26,9	26,8	27,1	27	27,1	26,7

72 horas	0.342 ppm A	0.342 ppm B	0.342 ppm C	0.388 ppm A	0.388 ppm B	0.388 ppm C
pH	7,7	7,77	7,82	7,77	7,78	7,81
Cond.(uS/cm)	182,6	182,8	181,8	181,7	180,8	181,3
O.D. (mg/L)	6,7	7	6,9	6,7	6,9	7
Temp. (°C)	26,6	26,9	26,7	26,9	26,8	26,9

96 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.205 ppm A	0.205 ppm B	0.205 ppm C	0.251 ppm A	0.251 ppm B	0.251 ppm C	0.297 ppm A	0.297 ppm B	0.297 ppm C
pH	7,88	7,91	8	7,91	7,97	7,92	7,8	7,75	7,9	7,83	7,81	7,73
Cond.(uS/cm)	182,4	182,6	182	181,9	182,1	182,3	185,3	182,8	182,1	181,9	183,5	186,4
O.D. (mg/L)	7,3	7,3	7,4	7,2	7,3	7,1	7,1	7,2	7,3	7,2	6,9	7
Temp. (°C)	26,5	26,8	26,5	26,7	26,6	26,5	26,5	26,6	26,8	26,5	26,6	27,1

96 horas	0.342 ppm A	0.342 ppm B	0.342 ppm C	0.388 ppm A	0.388 ppm B	0.388 ppm C
pH	7,77	7,78	7,82	7,83	7,84	7,82
Cond.(uS/cm)	180,1	179,9	180,4	179,8	179,2	179,2
O.D. (mg/L)	7,4	7,5	7,4	7	7,2	6,9
Temp. (°C)	26,8	26,5	26,7	26,6	26,5	26,5

**Prueba de toxicidad 0 horas con sedimento tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)- malathion**

0 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.301 ppm A	0.301 ppm B	0.301 ppm C	0.329 ppm A	0.329 ppm B	0.329 ppm C	0.356 ppm A	0.356 ppm B	0.356 ppm C
pH	7,59	7,6	7,6	7,58	7,53	7,56	7,6	7,55	7,59	7,63	7,62	7,58
Cond.(uS/cm)	176,3	175,4	177,7	176,2	179,4	178,6	176,3	175,9	174,3	175,4	172,3	170,2
O.D. (mg/L)	6,3	6,5	6,8	6,5	6,9	6,2	6,6	6,5	6,8	6,6	6,4	6,9
Temp. (°C)	25,9	26,1	26,1	25,9	25,9	25,7	26,1	26	25,8	26	25,9	25,9

0 horas	0.383 ppm A	0.383 ppm B	0.383 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C
pH	7,59	7,54	7,6	7,52	7,49	7,48
Cond.(uS/cm)	178,5	177,8	174,8	176,2	175,6	178,6
O.D. (mg/L)	6,9	6,5	6,9	6,2	6,3	6,8
Temp. (°C)	25,8	26,1	26,2	26	26	25,7

24 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.301 ppm A	0.301 ppm B	0.301 ppm C	0.329 ppm A	0.329 ppm B	0.329 ppm C	0.356 ppm A	0.356 ppm B	0.356 ppm C
pH	7,74	7,69	7,79	7,7	7,78	7,6	7,64	7,7	7,69	7,75	7,72	7,7
Cond.(uS/cm)	234	215	211	218	213	213	210	215	212	216	223	209
O.D. (mg/L)	6,9	6,4	7,2	6,8	7,3	6	6,6	6,9	6,9	7,2	6,9	6,9
Temp. (°C)	26,6	26,8	26,5	26,5	26,6	26,7	26,9	26,6	26,9	26,9	27,1	27,1

24 horas	0.383 ppm A	0.383 ppm B	0.383 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C
pH	7,64	7,65	7,65	7,61	7,54	7,58
Cond.(uS/cm)	217	215	216	209	209	207
O.D. (mg/L)	7	6,8	6,9	6,3	6	6,6
Temp. (°C)	26,6	26,8	26,8	27	27,1	26,8

48horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.301 ppm A	0.301 ppm B	0.301 ppm C	0.329 ppm A	0.329 ppm B	0.329 ppm C	0.356 ppm A	0.356 ppm B	0.356 ppm C
pH	7,95	7,8	7,94	7,76	7,8	7,69	7,87	7,93	7,91	8	7,95	7,93
Cond.(uS/cm)	233	231	225	225	218	220	225	228	229	233	244	223
O.D. (mg/L)	7	6,2	7,2	6,6	7,1	6,6	7	7,2	7	7,4	7,2	7,2
Temp. (°C)	26,8	26,5	26,7	26,7	26,9	26,9	27,1	26,8	27,2	27	26,9	26,8

48 horas	0.383 ppm A	0.383 ppm B	0.383 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C
pH	7,88	7,86	7,9	7,9	7,83	7,78
Cond.(uS/cm)	231	231	230	224	223	221
O.D. (mg/L)	7	7,1	7,2	6,9	7,1	6,8
Temp. (°C)	26,7	26,9	27,1	26,7	26,7	26,9

72 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.301 ppm A	0.301 ppm B	0.301 ppm C	0.329 ppm A	0.329 ppm B	0.329 ppm C	0.356 ppm A	0.356 ppm B	0.356 ppm C
pH	8	7,84	8,03	7,81	7,84	7,74	7,8	7,96	7,95	8,01	8	7,95
Cond.(uS/cm)	276	248	239	253	249	223	243	247	247	252	267	242
O.D. (mg/L)	7,2	6,5	7,3	7,1	7,1	6,9	7	7,4	7,3	7,4	7,3	7,3
Temp. (°C)	27,1	26,6	26,9	26,6	26,5	26,8	26,8	27	26,8	26,9	26,9	26,6

72 horas	0.383 ppm A	0.383 ppm B	0.383 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C
pH	7,9	7,92	7,95	7,84	7,89	7,92
Cond.(uS/cm)	251	250	247	244	243	241
O.D. (mg/L)	7,1	7,1	7,2	7	7,1	7,1
Temp. (°C)	26,8	26,6	26,3	26,8	26,7	26,8

96 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.301 ppm A	0.301 ppm B	0.301 ppm C	0.329 ppm A	0.329 ppm B	0.329 ppm C	0.356 ppm A	0.356 ppm B	0.356 ppm C
pH	7,98	7,85	7,98	7,79	7,85	7,85	7,88	7,95	7,97	7,99	8,02	7,98
Cond.(uS/cm)	280	249	241	258	259	228	249	253	251	258	268	247
O.D. (mg/L)	7,1	6,7	7,3	6,8	7	7,2	6,8	7,1	7	7	7,2	7
Temp. (°C)	26,8	26,8	27,1	26,5	26,4	26,6	26,8	26,4	26,7	26,5	26,8	26,7

96 horas	0.383 ppm A	0.383 ppm B	0.383 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C
pH	8,01	7,95	7,99	7,9	7,93	7,89
Cond.(uS/cm)	255	258	252	247	251	246
O.D. (mg/L)	6,8	6,9	7,1	7,1	7	7
Temp. (°C)	26,4	26,6	26,9	26,9	27	26,6



**Prueba de toxicidad 12 horas sin sedimento tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)- malathion**

0 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.319 ppm A	0.319 ppm B	0.319 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C	0.502 ppm A	0.502 ppm B	0.502 ppm C
pH	7,7	7,73	7,79	7,8	7,76	7,81	7,77	7,55	7,63	7,72	7,75	7,69
Cond.(uS/cm)	168,4	167,5	168,9	169,9	169,8	169,4	167,8	166,4	169,2	168,7	168,2	168,3
O.D. (mg/L)	7	7	6,9	7	6,9	6,9	6,7	5,7	6,9	7	6,7	7,2
Temp. (°C)	25,6	25,9	26,1	26	26,2	25,8	26	25,7	25,9	25,7	26,2	26

0 horas	0.593 ppm A	0.593 ppm B	0.593 ppm C	0.684 ppm A	0.684 ppm B	0.684 ppm C	0.776 ppm A	0.776 ppm B	0.776 ppm C
pH	7,74	7,77	7,77	7,8	7,72	7,69	7,72	7,68	7,78
Cond.(uS/cm)	169,3	168,6	166,3	168,7	168,5	169,9	167,9	168,5	168,2
O.D. (mg/L)	7	7	7,2	7,1	6,8	7,1	6,9	7	7
Temp. (°C)	25,9	25,5	25,7	25,8	25,5	25,7	25,9	25,6	25,5

12 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.319 ppm A	0.319 ppm B	0.319 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C	0.502 ppm A	0.502 ppm B	0.502 ppm C
pH	7,9	7,96	8	7,98	7,95	7,93	7,91	7,58	7,71	7,81	7,83	7,84
Cond.(uS/cm)	175,2	174,8	175,1	176,4	177,4	175,2	174,7	174,4	174,1	173,9	175,3	175,4
O.D. (mg/L)	7,1	7,3	7,2	7,3	6,6	7,2	6,7	5,1	6,8	7,2	6,8	7
Temp. (°C)	25,7	25,8	25,8	26,3	26,5	25,9	26	25,9	25,8	25,8	26,1	26,1

12 horas	0.593 ppm A	0.593 ppm B	0.593 ppm C	0.684 ppm A	0.684 ppm B	0.684 ppm C	0.776 ppm A	0.776 ppm B	0.776 ppm C
pH	7,86	7,88	7,89	7,88	7,84	7,87	7,85	7,8	7,89
Cond.(uS/cm)	173,6	173,2	172,9	172,9	173	173	172,9	173,2	172,9
O.D. (mg/L)	7,2	7,2	7,3	7	6,8	7	6,8	7,1	7,2
Temp. (°C)	25,8	25,7	25,6	25,6	25,6	25,6	25,7	25,6	25,6

24 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.319 ppm A	0.319 ppm B	0.319 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C	0.502 ppm A	0.502 ppm B	0.502 ppm C
pH	7,91	7,93	7,91	7,95	7,95	7,93	7,87	7,75	7,74	7,79	7,85	7,89
Cond.(uS/cm)	176,2	175	175,4	177,1	178,3	175,9	175,4	174,9	174,8	174,4	176,1	176,2
O.D. (mg/L)	7	7	7,3	7,1	6,9	7	7	6,6	7,1	7	6,9	6,9
Temp. (°C)	26,9	26,5	26,7	27	26,8	26,6	26,5	26,9	26,9	27,1	26,8	27

24 horas	0.593 ppm A	0.593 ppm B	0.593 ppm C	0.684 ppm A	0.684 ppm B	0.684 ppm C	0.776 ppm A	0.776 ppm B	0.776 ppm C
pH	7,88	7,92	7,91	7,93	7,89	7,93	7,89	7,92	7,94
Cond.(uS/cm)	174,6	173,9	173,6	173,9	173,2	173,5	172,4	174	174,3
O.D. (mg/L)	7	7	6,9	7,2	7,1	6,9	6,9	7	7,3
Temp. (°C)	26,9	26,8	26,9	26,9	26,6	26,6	26,8	26,7	26,7

48 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.319 ppm A	0.319 ppm B	0.319 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C	0.502 ppm A	0.502 ppm B	0.502 ppm C
pH	7,86	7,92	7,93	7,97	7,98	7,93	7,83	7,85	7,87	7,93	7,9	7,92
Cond.(uS/cm)	178,8	176,6	176,8	177,9	178,7	176,6	176	175,3	175,2	174,6	176,5	176,8
O.D. (mg/L)	7,2	7,4	7,5	7,1	7,2	7	6,6	6,8	7	7,3	7,1	7,2
Temp. (°C)	26,9	26,7	26,6	26,8	27,1	26,9	26,8	26,6	26,8	26,7	26,9	27

48 horas	0.593 ppm A	0.593 ppm B	0.593 ppm C	0.684 ppm A	0.684 ppm B	0.684 ppm C	0.776 ppm A	0.776 ppm B	0.776 ppm C
pH	7,93	7,92	7,93	7,94	7,93	7,94	7,94	7,97	8,01
Cond.(uS/cm)	175,1	174,8	174,9	175	173,7	174	173,8	174,3	175,1
O.D. (mg/L)	7,3	7,4	7,4	7,1	7	7,3	7,2	7,5	7,6
Temp. (°C)	26,9	26,9	27,1	27,1	27	26,9	26,7	27	26,8

72 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.319 ppm A	0.319 ppm B	0.319 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C	0.502 ppm A	0.502 ppm B	0.502 ppm C
pH	7,9	7,93	7,98	8	8,02	8	7,91	7,9	7,95	8,01	8	7,98
Cond.(uS/cm)	180,3	181,4	179,3	180	181,4	180,7	180,6	182,3	181,7	181,5	182,3	183,1
O.D. (mg/L)	7,3	7	7,4	7,1	7,1	7,2	6,9	7	7,2	7	7,4	7,3
Temp. (°C)	27,1	26,9	27,2	27,1	27,3	27	26,9	27,2	27	26,9	26,8	26,6

72 horas	0.593 ppm A	0.593 ppm B	0.593 ppm C	0.684 ppm A	0.684 ppm B	0.684 ppm C	0.776 ppm A	0.776 ppm B	0.776 ppm C
pH	8,01	8,03	8,01	8	7,91	7,94			
Cond.(uS/cm)	180,9	179,7	179,9	181,3	180,9	183			
O.D. (mg/L)	7,2	7,1	7,3	7,1	7,3	7,3			
Temp. (°C)	26,8	27,1	27	27,2	27	26,9			

96 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.319 ppm A	0.319 ppm B	0.319 ppm C	0.411 ppm A	0.411 ppm B	0.411 ppm C	0.502 ppm A	0.502 ppm B	0.502 ppm C
pH	8,05	8,1	8,12	8,13	8,17	8,14	8	8,04	8,06	8,08	8,07	8,08
Cond.(uS/cm)	190,4	186,4	183,9	184,3	185,6	181,5	181	180,2	180,6	180	182	182,4
O.D. (mg/L)	7	7,2	7,3	7,2	7	7,1	6,4	7	6,9	7,1	7	7,2
Temp. (°C)	27	26,9	27	27,1	27,1	26,7	26,8	27,1	26,6	26,7	26,7	26,9

96 horas	0.593 ppm A	0.593 ppm B	0.593 ppm C	0.684 ppm A	0.684 ppm B	0.684 ppm C	0.776 ppm A	0.776 ppm B	0.776 ppm C
pH	8,06	8,07	8,1	8,06	8,11	8,11			
Cond.(uS/cm)	180,9	181	181,9	184,4	178,5	179,2			
O.D. (mg/L)	7,3	7,3	7,4	7,4	7,4	7,2			
Temp. (°C)	27,1	26,8	27,2	27,2	27,4	27,1			

**Prueba de toxicidad 12 horas con sedimento tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)- malathion**

0 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.365 ppm A	0.365 ppm B	0.365 ppm C	0.456 ppm A	0.456 ppm B	0.456 ppm C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C
pH	7,7	7,72	7,69	7,65	7,66	7,69	7,73	7,78	7,66	7,59	7,62	7,61
Cond.(uS/cm)	195,9	195,5	194,6	195,3	198,4	192,3	191	190,7	190,5	190,7	192,3	190,3
O.D. (mg/L)	6,6	6,5	6,6	6,4	6,7	6,2	6,8	6,8	6,5	6	6,4	6,9
Temp. (°C)	26	26,1	26	26,2	26	25,8	25,8	25,9	25,8	25,8	25,9	26

0 horas	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C
pH	7,69	7,67	7,7	7,71	7,69	7,65	7,62	7,68	7,65
Cond.(uS/cm)	196,3	199,3	198,5	195,6	194,6	198,8	197,5	199,5	201
O.D. (mg/L)	7,1	7	7,2	7	6,7	6,5	6,7	6,6	6,8
Temp. (°C)	26,3	26	26	26	25,8	25,8	25,9	25,8	26,1

12 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.365 ppm A	0.365 ppm B	0.365 ppm C	0.456 ppm A	0.456 ppm B	0.456 ppm C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C
pH	7,9	7,79	7,78	7,77	7,72	7,74	7,86	7,88	7,74	7,62	7,76	7,81
Cond.(uS/cm)	214	221	225	220	227	222	238	231	220	224	220	220
O.D. (mg/L)	6,8	6,3	6,6	6,5	6,6	6,7	7	7,1	6,4	5,8	6,8	7
Temp. (°C)	25,8	26,1	26,1	26,4	25,9	26	25,8	25,7	25,9	25,8	25,8	25,8

12 horas	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C
pH	7,84	7,81	7,85	7,86	7,8	7,77	7,79	7,83	7,84
Cond.(uS/cm)	225	229	234	219	217	221	239	220	230
O.D. (mg/L)	6,9	6,9	7	7,1	6,8	6,8	6,9	7,1	6,9
Temp. (°C)	26,1	26,2	26,1	25,9	25,9	25,9	25,7	25,7	26

24 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.365 ppm A	0.365 ppm B	0.365 ppm C	0.456 ppm A	0.456 ppm B	0.456 ppm C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C
pH	7,93	7,81	7,79	7,8	7,78	7,75	7,88	7,93	7,79	7,76	7,87	7,8
Cond.(uS/cm)	222	219	228	231	233	229	245	242	232	230	228	235
O.D. (mg/L)	6,9	7	6,5	6,8	6,6	6,7	6,9	7	6,8	6,5	6,9	6,9
Temp. (°C)	26,5	26,9	26,5	26,8	26,6	26,4	26,6	26,9	26,3	26,7	26,8	26,8

24 horas	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C
pH	7,85	7,88	7,92	7,83	7,79	7,81	7,81	7,87	7,82
Cond.(uS/cm)	239	241	247	226	230	234	244	229	242
O.D. (mg/L)	7	7,1	6,9	6,9	6,8	7,1	7	7	6,9
Temp. (°C)	27,1	26,9	26,3	27	26,6	26,8	26,8	26,9	27,1

48 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.365 ppm A	0.365 ppm B	0.365 ppm C	0.456 ppm A	0.456 ppm B	0.456 ppm C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C
pH	7,94	7,78	7,82	7,84	7,79	7,83	7,94	7,97	7,83	7,81	7,92	7,86
Cond.(uS/cm)	231	238	248	238	247	239	269	259	239	241	236	239
O.D. (mg/L)	7,1	6,9	6,8	6,8	6,8	6,9	6,8	6,5	6,7	6,7	6,3	6,9
Temp. (°C)	26,5	26,8	26,6	27,1	26,9	27	26,7	26,6	26,9	26,8	27	27,1

48 horas	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C
pH	7,88	7,89	7,95	7,88	7,81			7,89	
Cond.(uS/cm)	255	252	258	240	257			237	
O.D. (mg/L)	6,9	7,1	7,1	7	6,7			7	
Temp. (°C)	26,7	26,5	26,7	27,2	27,1			27	

72 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.365 ppm A	0.365 ppm B	0.365 ppm C	0.456 ppm A	0.456 ppm B	0.456 ppm C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C
pH	7,94	7,85	7,86	7,87	7,86	7,9	7,97	8,01	7,93	7,87	7,93	7,89
Cond.(uS/cm)	249	245	254	246	256	253	248	271	266	251	246	249
O.D. (mg/L)	7	6,9	7	7,1	7	6,8	6,6	6,9	7,3	7	6,9	6,7
Temp. (°C)	26,6	26,8	27,1	26,6	26,9	26,9	26,6	26,8	24,6	27,2	27	26,9

72 horas	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C
pH	7,87	7,93	7,95		7,83				
Cond.(uS/cm)	263	260	267		242				
O.D. (mg/L)	6,9	7,3	7		7,3				
Temp. (°C)	26,6	26,5	26,6		27,1				

96 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.365 ppm A	0.365 ppm B	0.365 ppm C	0.456 ppm A	0.456 ppm B	0.456 ppm C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C
pH	8,02	7,89	7,98	7,97	7,91	7,9	8,08	8,09	7,84	7,88	8,04	8,02
Cond.(uS/cm)	272	280	292	279	287	278	320	306	281	283	272	279
O.D. (mg/L)	6,8	6,2	6,9	6,7	6,8	6,8	7	7,2	6,3	6,7	7,1	7,2
Temp. (°C)	26,8	26,6	26,8	26,8	26,9	27	27,1	27	27	26,8	26,9	26,9

96 horas	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C
pH	8,02	8,02	8,13		8				
Cond.(uS/cm)	301	298	298		277				
O.D. (mg/L)	7	7,1	7,1		6,8				
Temp. (°C)	26,8	26,8	27,1		26,8				

**Prueba de toxicidad 24 horas sin sedimento tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)- malathion**

0 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C	1.004 ppm A	1.004 ppm B	1.004 ppm C
pH	7,6	7,61	7,6	7,62	7,59	7,65	7,62	7,68	7,64	7,66	7,69	7,72
Cond.(uS/cm)	168,4	169,8	167,7	165,7	169,8	166,8	164,9	166,5	166,2	165,8	164,3	165,3
O.D. (mg/L)	7,2	6,2	7,2	6,8	6,9	6,5	7	7,1	6,8	7	6,9	7
Temp. (°C)	26,5	26,1	26,3	26,7	26,5	26,1	25,7	26,2	26,3	26,2	26,5	26,1

0 horas	1.186 ppm A	1.186 ppm B	1.186 ppm C	1.369 ppm A	1.369 ppm B	1.369 ppm C
pH	7,65	7,72	7,7	7,58	7,6	7,63
Cond.(uS/cm)	168,1	165,5	165,8	165,4	166,6	165,3
O.D. (mg/L)	6,9	6,8	6,5	7	7,2	7
Temp. (°C)	26,5	26,6	26,3	26,1	26	26,2

24 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C	1.004 ppm A	1.004 ppm B	1.004 ppm C
pH	7,68	7,73	7,71	7,8	7,77	7,84	7,8	7,87	7,78	7,8	7,82	7,96
Cond.(uS/cm)	180	179,3	177,6	175,9	175,1	171,8	170,9	171	170,5	169	170,3	171
O.D. (mg/L)	7,3	6,3	7,2	7	6,8	6,9	6,9	6,8	6,9	7,1	6,8	7,2
Temp. (°C)	26,6	26,5	26,5	26,6	26,4	26	25,9	26,1	26,6	26,7	26,7	26

24 horas	1.186 ppm A	1.186 ppm B	1.186 ppm C	1.369 ppm A	1.369 ppm B	1.369 ppm C
pH	7,79	7,83	7,85	7,76	7,79	7,84
Cond.(uS/cm)	172,7	170,4	171,1	172,1	170,9	172,3
O.D. (mg/L)	7	6,9	6,9	7,1	7	7,1
Temp. (°C)	26,3	26,7	26,4	26,4	26,2	26,1

48 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C	1.004 ppm A	1.004 ppm B	1.004 ppm C
pH	7,75	7,8	7,81	7,84	7,82	7,91	7,87	7,93	7,86	7,87	7,88	7,96
Cond.(uS/cm)	184,1	182,4	179,6	178,2	177,8	174	173,2	173,4	171,4	171,3	172,4	173,2
O.D. (mg/L)	6,3	6,5	6,6	7	6,8	7,1	7	6,9	6,7	6,8	6,8	6,9
Temp. (°C)	26,5	26,7	26,6	26,8	26,6	26,5	26,3	26,8	26,9	26,5	26,6	26,8

48 horas	1.186 ppm A	1.186 ppm B	1.186 ppm C	1.369 ppm A	1.369 ppm B	1.369 ppm C
pH	7,84		7,88	7,84	7,82	
Cond.(uS/cm)	174,9		175,3	176,4	174,5	
O.D. (mg/L)	7,1		7,2	6,8	7,1	
Temp. (°C)	26,6		27	26,8	26,6	

72 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C	1.004 ppm A	1.004 ppm B	1.004 ppm C
pH	8,02	7,94	7,92	7,88	7,92	7,92	7,9	7,88	8,02	7,93	7,96	7,93
Cond.(uS/cm)	187,5	185,9	183,8	182,3	180,7	177	177,1	177,7	176,2	176,6	175,8	178,7
O.D. (mg/L)	7,1	7	7,1	7	7,2	7,2	7,3	6,9	7,4	7,3	6,9	7,4
Temp. (°C)	27,1	26,8	26,9	26,9	27,1	26,9	27	27	26,9	26,7	26,6	26,7

72 horas	1.186 ppm A	1.186 ppm B	1.186 ppm C	1.369 ppm A	1.369 ppm B	1.369 ppm C
pH	7,96		7,99			
Cond.(uS/cm)	179,9		181,3			
O.D. (mg/L)	6,5		6,8			
Temp. (°C)	26,9		26,7			

96 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.639 ppm A	0.639 ppm B	0.639 ppm C	0.821 ppm A	0.821 ppm B	0.821 ppm C	1.004 ppm A	1.004 ppm B	1.004 ppm C
pH	8	7,97	8,01	7,95	7,99	7,97	8	7,94	8,01	8		8,05
Cond.(uS/cm)	189,4	187,9	185,8	183,9	183,5	180,5	182	180,6	181,3	180,4		181,3
O.D. (mg/L)	7	7	6,9	7	7,1	7	6,8	6,8	7,1	7		7,1
Temp. (°C)	26,9	26,9	27	26,8	26,9	27	26,7	27,1	26,9	27,4		27,2

96 horas	1.186 ppm A	1.186 ppm B	1.186 ppm C	1.369 ppm A	1.369 ppm B	1.369 ppm C
pH						
Cond.(uS/cm)						
O.D. (mg/L)						
Temp. (°C)						

**Prueba de toxicidad 24 horas con sedimento tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*)- malathion**

0 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.912 ppm A	0.912 ppm B	0.912 ppm C
pH	7,7	7,75	7,72	7,68	7,69	7,78	7,7	7,72	7,65	7,54	7,62	7,5
Cond.(uS/cm)	201	199,9	198,4	199,5	193,2	190,9	191,2	190,8	190,5	192,3	191,2	189,3
O.D. (mg/L)	7	7	7,1	6,8	7	7,2	7	7	6,7	6,5	6,7	6,9
Temp. (°C)	26,3	26,2	26,4	26,3	26	26,5	26,6	26,3	26,5	26	26,3	26

0 horas	1.095 ppm A	1.095 ppm B	1.095 ppm C	1.277 ppm A	1.277 ppm B	1.277 ppm C
pH	7,65	7,47	7,5	7,58	7,46	7,45
Cond.(uS/cm)	199,5	197,6	198,6	194,2	186,7	185,3
O.D. (mg/L)	7,2	6,3	6,3	6,4	6,8	6,6
Temp. (°C)	26,9	26,7	25,9	26,2	26,5	26,5

24 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.912 ppm A	0.912 ppm B	0.912 ppm C
pH	7,87	7,93	7,9	7,8	7,79	7,92	7,86	7,83	7,76	7,47	7,76	7,53
Cond.(uS/cm)	220	237	226	236	214	207	210	213	217	204	213	217
O.D. (mg/L)	7,1	7,2	7	6,9	7,1	7,4	7,3	6,8	6,8	6	6,9	6,4
Temp. (°C)	26,1	26,5	26,7	26,5	26,2	26,3	26,2	26,4	26,1	26,2	26,1	26,1

24 horas	1.095 ppm A	1.095 ppm B	1.095 ppm C	1.277 ppm A	1.277 ppm B	1.277 ppm C
pH	7,79	7,51	7,5	7,65	7,51	7,69
Cond.(uS/cm)	223	214	225	215	201	203
O.D. (mg/L)	7,1	6	6,1	6,6	6,4	6,8
Temp. (°C)	27,2	27,1	25,7	26,5	26,5	26,3

48 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.912 ppm A	0.912 ppm B	0.912 ppm C
pH	7,68	7,73	7,71	7,8	7,77	7,79	7,8	7,85	7,79	7,5	7,82	7,59
Cond.(uS/cm)	233	246	234	243	222	218	215	228	230	219	221	225
O.D. (mg/L)	7	7	7,1	7	6,9	7,3	7,3	6,9	6,8	6,5	6,8	6,6
Temp. (°C)	26,9	27	26,5	26,4	26,5	26,9	26,6	26,9	26,5	26,5	26,7	26,3

48 horas	1.095 ppm A	1.095 ppm B	1.095 ppm C	1.277 ppm A	1.277 ppm B	1.277 ppm C
pH	7,78	7,55	7,58	7,7		
Cond.(uS/cm)	239	230	237	226		
O.D. (mg/L)	7	7	6,9	6,6		
Temp. (°C)	27	26,8	26,6	26,7		

72 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.912 ppm A	0.912 ppm B	0.912 ppm C
pH	7,83	7,95	7,89	7,88	7,78	7,86	7,86	7,89	7,86	7,68	7,89	7,75
Cond.(uS/cm)	253	276	263	281	258	250	244	256	257	225	258	262
O.D. (mg/L)	6	6,4	6,8	6,9	6,7	7	7,2	6,9	6,9	6,6	6,8	6,5
Temp. (°C)	26,8	26,8	26,6	26,7	26,8	26,5	26,8	26,9	27,1	26,8	26,6	27,2

72 horas	1.095 ppm A	1.095 ppm B	1.095 ppm C	1.277 ppm A	1.277 ppm B	1.277 ppm C
pH	7,93	7,61				
Cond.(uS/cm)	271	264				
O.D. (mg/L)	7,2	7				
Temp. (°C)	26,6	26,9				

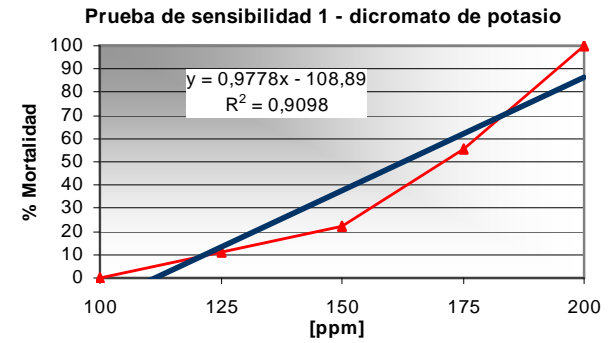
96 horas	Contr. A	Contr. B	Contr. C	0.547 ppm A	0.547 ppm B	0.547 ppm C	0.730 ppm A	0.730 ppm B	0.730 ppm C	0.912 ppm A	0.912 ppm B	0.912 ppm C
pH	7,9	7,94	7,92	7,93	7,89	7,88	7,91	7,95	7,92	7,74	7,97	7,86
Cond.(uS/cm)	268	279	270	274	264	255	258	263	261	234	267	267
O.D. (mg/L)	6,1	6,3	6,8	7	7	6,9	7	6,9	6,7	6,6	6,5	6,7
Temp. (°C)	26,4	26,6	26,8	26,5	26,9	26,6	27,2	27	26,8	26,5	26,6	27,1

96 horas	1.095 ppm A	1.095 ppm B	1.095 ppm C	1.277 ppm A	1.277 ppm B	1.277 ppm C
pH	7,95	7,78				
Cond.(uS/cm)	271	267				
O.D. (mg/L)	7	6,9				
Temp. (°C)	26,8	27				

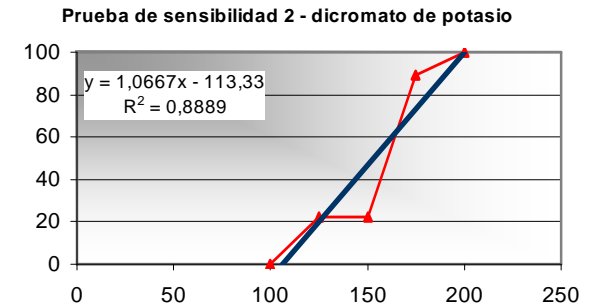


**ANEXO D. Prueba de sensibilidad en alevinos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) con dicromato de potasio - 1mg/ml**

[ppm]	24 Horas	48 Horas	72 Horas	96 Horas	Total Muertos	% Mortalidad
0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	1	1	11,11
150	0	0	1	1	2	22,22
175	0	1	2	2	5	55,56
200	2	3	2	2	9	100



[ppm]	24 Horas	48 Horas	72 Horas	96 Horas	Total Muertos	% Mortalidad
0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0
125	0	0	0	2	2	22,22
150	0	1	1	0	2	22,22
175	1	3	3	1	8	88,89
200	4	2	2	1	9	100



## Anexo E. Observaciones clínicas y de comportamiento de los bioensayos

Alteraciones del comportamiento, signos clínicos, 0 horas sin sedimento.

TTO mg/L		Signos Clínicos	Observaciones
Control	Normal		En las 96 horas
0, 205	Normal		En las 96 horas
0,251	Actitud de alerta. Hiperactividad. Convulsiones. Peces muertos decoloración de la piel.		En las 96 horas De las 10 a 12h De las 14 - 72h
0,297	Actitud de alerta. Nado en el fondo y errático. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		De las 0 – 36 h De las 12 – 96 h De las 12 –72 h
0,342	Nado cerca de la superficie, boqueo permanente con respiración acelerada. Hiperactividad. Nado errático, mucus excesivo. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 2h En las 96 horas A partir de las 2h A partir de las 1h
0,388	Nado cerca de la superficie, boqueo permanente con movimiento opercular acelerado. Hiperactividad. Nado errático. Mucus excesivo. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 0h En las 96 horas A partir de las 0,5h A partir de las 6h A partir de las 2 h

Alteraciones del comportamiento, signos clínicos 12 horas sin sedimento.

TTO mg/L		Signos Clínicos	Observaciones
Control	Normal		En las 96 horas
0,319	Normal		En las 96 horas
0,411	Hiperactividad.		De las 36 – 60 h
0,502	Actitud de alerta. Nado superficial y movimientos erráticos. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		En las 96 h De las 24 – 80 h De las 24 – 80 h
0,593	Actitud de alerta. Hiperactividad. Nado superficial y movimientos erráticos. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel y mucus.		En las 96 horas A partir de las 10h De las 48 – 90 h A partir de las 20 h
0,684	Nado errático, cerca de la superficie, con movimiento opercular acelerado. Actitud alerta e hiperactividad. Mucus excesivo. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 5 h En las 96 horas A partir de las 5 h A partir de las 5h
0,776	Nado errático cerca de la superficie, boqueo permanente con movimiento opercular acelerado. Hiperactividad. Mucus excesivo. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 0h En las 96 horas A partir de las 2 h En las 96 horas

Alteraciones del comportamiento, signos clínicos 24 horas sin sedimento.

TTO mg/L		Signos Clínicos	Observaciones
Control	Normal		En las 96 horas
0,639	Normal		En las 96 horas
0,821	Hiperactividad. Actitud de alerta. Nado errático Mucus excesivo Peces muertos con decoloración de la piel.		De las 12 – 96 h En las 96 h A partir de las 24 h A partir de las 20 h
1,004	Actitud de alerta e hiperactividad. Nado superficial, boqueo y movimientos erráticos. Convulsiones. Mucus excesivo Peces muertos con decoloración de la piel.		En las 96 h De las 12 – 96 h De las 6 – 96 h A partir de las 6 h
1,186	Actitud de alerta e hiperactividad. Mucus excesivo Nado superficial y movimientos erráticos. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel y mucus.		En las 96 horas A partir de las 4 h A partir de las 2h A partir de las 0,5 h A partir de las 0,5 h
1,369	Nado errático, cerca de la superficie, con movimiento opercular acelerado. Actitud alerta e hiperactividad. Mucus excesivo. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 0,5 h En las 96 horas A partir de las 2 h A partir de las 1,5 h

Alteraciones del comportamiento, signos clínicos, 0 horas con sedimento.

TTO mg/L		Signos Clínicos	Observaciones
Control	Normal		En las 96 horas
0,301	Normal con actitud alerta		En las 96 horas
0,329	Actitud de alerta e hiperactividad. Nado errático y mucus excesivo Convulsiones. Peces muertos decoloración de la piel.		En las 96 horas De as 0 a 90 h De las 24 – 96h
0,356	Actitud de alerta e hiperactividad. Nado errático y presencia de mucus. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		En las 96 horas De las 0 – 96 h De las 12 –80 h
0,383	Nado errático, cerca de la superficie, boqueo con movimiento opercular acelerado. Mucus excesivo en branquias. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 5 h De las 3 – 90 h A partir de las 2h
0,411	Nado errático, cerca de la superficie, boqueo con movimiento opercular acelerado. Mucus excesivo en branquias. Convulsiones. Pérdida de estímulo visual Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 0h En las 96 horas A partir de las 0h De las 6 –96 h

Alteraciones del comportamiento, signos clínicos 12 horas con sedimento.

TTO mg/L		Signos Clínicos	Observaciones
Control	Normal		En las 96 horas
0,365	Normal		En las 96 horas
0,456	Hiperactividad. Boqueo Peces muertos con decoloración de la piel.		De las 12 – 50 h De las 12 – 36 h
0,547	Actitud de alerta. Nado superficial y movimientos erráticos y convulsiones. Presencia de mucus. Peces muertos con decoloración de la piel.		En las 96 h De las 12 – 48 h De las 12 – 60 h
0,639	Actitud de alerta. Nado superficial y movimientos erráticos y convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel y mucus.		En las 96 horas De las 6 – 96 h
0,730	Pérdida del estímulo visual Nado errático, cerca de la superficie, actitud alerta e hiperactividad. Mucus excesivo en branquias con pequeñas hemorragias. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 12 h De las 2 – 96 h De las 48 – 72 h A partir de las 3 h
0,821	Nado errático cerca de la superficie, boqueo permanente con movimiento opercular acelerado. Pérdida del estímulo visual Mucus excesivo en branquias con pequeñas hemorragias. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 0h A partir de la 1 h A partir de las 30 h En las 96 horas

Alteraciones del comportamiento, signos clínicos 24 horas con sedimento.

TTO mg/L		Signos Clínicos	Observaciones
Control	Normal		En las 96 horas
0,547	Normal		En las 96 horas
0,730	Actitud de alerta. Nado errático y boqueo Peces muertos con decoloración de la piel.		En las 96 h De las 40 – 45 h
0,912	Nado superficial, boqueo y movimientos erráticos. Convulsiones. Mucus excesivo Pérdida de estímulo visual Peces muertos con decoloración de la piel.		De las 10 – 48 h De las 36 – 48 h De las 24 – 48 h De las 10 – 96 h
1,095	Mucus excesivo en branquias Nado superficial boqueo y movimientos erráticos. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel y mucus.		De las 6 – 48 h A partir de las 3 h De las 2 – 72 h
1,277	Nado errático, con movimiento opercular acelerado. Mucus excesivo en branquias y hemorragias en los bordes. Convulsiones. Peces muertos con decoloración de la piel.		A partir de las 2 h De las 3 – 48 h Hasta las 48 horas

**ANEXO F. Inyecciones de las muestras de malathion para cálculos de límites de detección y cuantificación.**

Injection Date: 8/7/05 10:25 AM    Calculation Date: 8/7/05 10:34 AM  
 Operator : Jair S Pinto    Detector Type : 3800 (1 Volt)  
 Workstation :    Bus Address : 44  
 Instrument : CP 3800    Sample Rate : 10.00 Hz  
 Channel : Front = TSD    Run Time : 13.994 min

\*\*Star Chromatography Workstation Version 5.50 \*\* 01180-3220-082-0654 \*\*

Run Mode : Analysis  
 Peak Measurement : Peak Area  
 Calculation Type : Percent

Peak No.	Peak Name	Result ( )	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Width Sep. Code	1/2 (sec)	Status Codes
1	Malathion	100.0000	8.448	0.002	85907	BB	1.5	
2	Malathion	100.0000	8.428	0.018	81891	BB	1.5	
3	Malathion	100.0000	8.450	0.004	88171	BB	1.5	
4	Malathion	100.0000	8.446	0.000	85032	BB	1.5	
5	Malathion	100.0000	8.449	0.003	79287	BB	1.5	
6	Malathion	100.0000	8.447	0.001	86203	BB	1.5	
7	Malathion	100.0000	8.451	0.005	82379	BB	1.5	
8	Malathion	100.0000	8.451	0.005	83798	BB	1.5	
9	Malathion	100.0000	8.448	0.002	82478	BB	1.5	
10	Malathion	100.0000	8.445	0.001	77937	BB	1.5	
11	Malathion	100.0000	8.450	0.004	85397	BB	1.5	



## ANEXO G. Inyecciones de las muestras de malathion de los ensayos de 12 y 24 horas.

Injection Date: 11/7/05 5:11 PM    Calculation Date: 11/7/05 5:19 PM  
 Operator : Daniele    Detector Type : 3800 (1 Volt)  
 Workstation :    Bus Address : 44  
 Instrument : CP 3800    Sample Rate : 10.00 Hz  
 Channel : Front = TSD    Run Time : 13.987 min

\*\*Star Chromatography Workstation Version 5.50 \*\* 01180-3220-082-0654 \*\*

Run Mode : Analysis  
 Peak Measurement : Peak Area  
 Calculation Type : Percent

Peak No.	Peak Name	Result ( )	Ret. Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Sep. Code	Width 1/2 (sec)	Status Codes
1	Malathion	100.0000	8.449	0.003	400	BB	1.5	
2	Malathion	100.0000	8.449	0.003	141	BB	1.5	
3	Malathion	100.0000	8.448	0.001	559	BB	1.5	
4	Malathion	100.0000	8.445	0.001	68523	BB	1.5	
5	Malathion	100.0000	8.450	0.004	51868	BB	1.5	
6	Malathion	100.0000	8.444	0.002	43723	BB	1.5	
7	Malathion	100.0000	8.451	0.005	86650	BB	1.5	
8	Malathion	100.0000	8.445	0.001	93475	BB	1.5	
9	Malathion	100.0000	8.448	0.002	98564	BB	1.5	
10	Malathion	100.0000	8.443	0.003	109129	BB	1.5	
11	Malathion	100.0000	8.451	0.005	110735	BB	1.5	
12	Malathion	100.0000	8.444	0.002	88364	BB	1.5	
13	Malathion	100.0000	8.450	0.004	152157	BB	1.5	
14	Malathion	100.0000	8.445	0.001	121812	BB	1.5	
15	Malathion	100.0000	8.443	0.003	97235	BB	1.5	
16	Malathion	100.0000	8.448	0.002	107498	BB	1.5	
17	Malathion	100.0000	8.449	0.003	59757	BB	1.5	
18	Malathion	100.0000	8.448	0.002	105971	BB	1.5	
19	Malathion	100.0000	8.444	0.002	194062	BB	1.5	
20	Malathion	100.0000	8.442	0.004	97497	BB	1.5	
21	Malathion	100.0000	8.445	0.001	179293	BB	1.5	
22	Malathion	100.0000	8.447	0.001	1263	BB	1.5	
23	Malathion	100.0000	8.448	0.002	410	BB	1.5	
24	Malathion	100.0000	8.450	0.004	331	BB	1.5	
25	Malathion	100.0000	8.447	0.001	122924	BB	1.5	
26	Malathion	100.0000	8.443	0.003	100131	BB	1.5	
27	Malathion	100.0000	8.451	0.005	107129	BB	1.5	
28	Malathion	100.0000	8.450	0.004	137448	BB	1.5	
29	Malathion	100.0000	8.445	0.001	169039	BB	1.5	
30	Malathion	100.0000	8.449	0.003	208318	BB	1.5	
31	Malathion	100.0000	8.442	0.004	139824	BB	1.5	

Peak No.	Peak Name	Ret. Result ( )	Time (min)	Time Offset (min)	Area (counts)	Width Sep. Code	1/2 (sec)	Status Codes
32	Malathion	100.0000	8.445	0.001	184658	BB	1.5	
33	Malathion	100.0000	8.450	0.004	173195	BB	1.5	
34	Malathion	100.0000	8.444	0.002	110287	BB	1.5	
35	Malathion	100.0000	8.445	0.001	194361	BB	1.5	
36	Malathion	100.0000	8.449	0.003	257374	BB	1.5	
37	Malathion	100.0000	8.451	0.005	226076	BB	1.5	
38	Malathion	100.0000	8.448	0.002	231382	BB	1.5	
39	Malathion	100.0000	8.450	0.004	157936	BB	1.5	
40	Malathion	100.0000	8.445	0.001	156726	BB	1.5	
41	Malathion	100.0000	8.451	0.005	137084	BB	1.5	
42	Malathion	100.0000	8.444	0.002	178763	BB	1.5	
43	Malathion	100.0000	8.445	0.001	75.3	BB	1.5	
44	Malathion	100.0000	8.443	0.003	59.5	BB	1.5	
45	Malathion	100.0000	8.449	0.003	90.3	BB	1.5	
46	Malathion	100.0000	8.443	0.003	126331	BB	1.5	
47	Malathion	100.0000	8.450	0.004	165737	BB	1.5	
48	Malathion	100.0000	8.444	0.002	139022	BB	1.5	
49	Malathion	100.0000	8.448	0.002	196639	BB	1.5	
50	Malathion	100.0000	8.449	0.003	199837	BB	1.5	
51	Malathion	100.0000	8.442	0.004	195478	BB	1.5	
52	Malathion	100.0000	8.445	0.001	237838	BB	1.5	
53	Malathion	100.0000	8.443	0.003	243158	BB	1.5	
54	Malathion	100.0000	8.448	0.002	233427	BB	1.5	
55	Malathion	100.0000	8.449	0.003	285969	BB	1.5	
56	Malathion	100.0000	8.442	0.004	245085	BB	1.5	
57	Malathion	100.0000	8.447	0.001	240587	BB	1.5	
58	Malathion	100.0000	8.448	0.002	278435	BB	1.5	
59	Malathion	100.0000	8.442	0.004	198403	BB	1.5	
60	Malathion	100.0000	8.447	0.001	249634	BB	1.5	
61	Malathion	100.0000	8.450	0.004	102.6	BB	1.5	
62	Malathion	100.0000	8.448	0.002	185.2	BB	1.5	
63	Malathion	100.0000	8.445	0.001	80.1	BB	1.5	
64	Malathion	100.0000	8.450	0.004	134455	BB	1.5	
65	Malathion	100.0000	8.444	0.002	129139	BB	1.5	
66	Malathion	100.0000	8.451	0.005	102578	BB	1.5	
67	Malathion	100.0000	8.448	0.002	163006	BB	1.5	
68	Malathion	100.0000	8.442	0.004	168758	BB	1.5	
69	Malathion	100.0000	8.450	0.004	173240	BB	1.5	
70	Malathion	100.0000	8.448	0.002	217723	BB	1.5	
71	Malathion	100.0000	8.445	0.001	173924	BB	1.5	
72	Malathion	100.0000	8.447	0.001	192525	BB	1.5	
73	Malathion	100.0000	8.448	0.002	315870	BB	1.5	
74	Malathion	100.0000	8.450	0.004	206259	BB	1.5	
75	Malathion	100.0000	8.447	0.001	121805	BB	1.5	
76	Malathion	100.0000	8.449	0.003	183345	BB	1.5	
77	Malathion	100.0000	8.444	0.002	151921	BB	1.5	
78	Malathion	100.0000	8.448	0.002	174644	BB	1.5	

## ANEXO H. Correlación de la variable concentración final Vs pH, oxígeno disuelto y temperatura.

The CORR Procedure

4 Variables: [Final] pH Oxígeno Temperatura

Variable	N	Mean	Std Dev
[Final]	66	0.17411	0.07259
pH	66	7.79167	0.11000
Oxígeno	66	6.84242	0.38433
Temperatura	66	26.09545	0.36265

Pearson Correlation Coefficients, N = 66  
 Prob > |r| under H0: Rho=0

[Final]	pH	Oxígeno	Temperatura	
[Final]	<b>1.00000</b>	<b>-0.15236</b> <b>0.2220</b>	<b>0.05653</b> <b>0.6521</b>	<b>0.42978</b> <b>0.0003</b>
pH	-0.15236 0.2220	1.00000	0.76977 <.0001	-0.18993 0.1266
Oxígeno	0.05653 0.6521	0.76977 <.0001	1.00000	-0.08690 0.4878
Temperatura	0.42978 0.0003	-0.18993 0.1266	-0.08690 0.4878	1.00000

