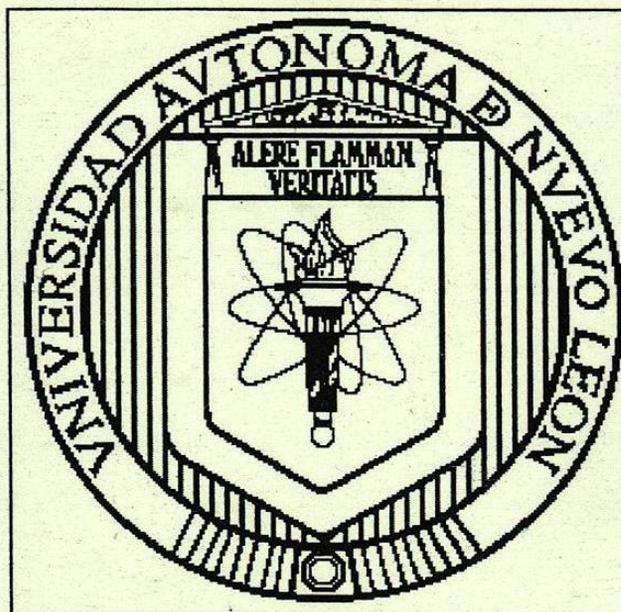


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE POSTGRADO



RESPUESTA HEMATOLOGICA DEL BAGRE DE CANAL *Ictalurus punctatus*  
(RAFINESQUE, 1818) A EXPOSICIONES SUBLETALES  $CL_{50}$  96 HRS.  
DEL INSECTICIDA ORGANOFOSFORADO ABATE<sup>R</sup> (TEMEPHOS)  
EN CONDICIONES DE LABORATORIO

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE **MAESTRO EN  
CIENCIAS** CON ESPECIALIDAD EN **ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA**

PRESENTA

BIOL. IRMA GALLEGOS MORALES

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

SEPTIEMBRE 1995.

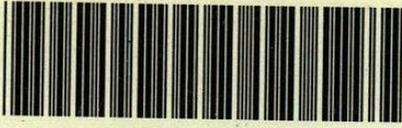
TM

Z 5 3 20

F C B

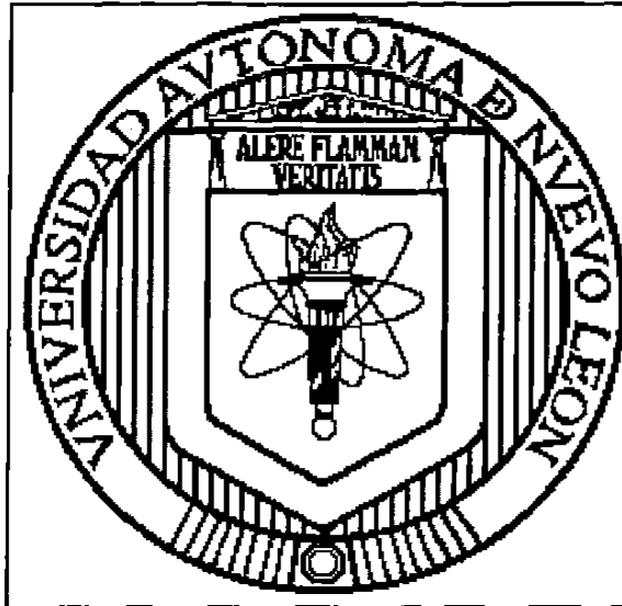
1 9 9 5

G 3



1020113934

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DIVISION DE POSTGRADO**



**RESPUESTA HEMATOLOGICA DEL BAGRE DE CANAL *Ictalurus punctatus***  
**(RAFINESQUE, 1818) A EXPOSICIONES SUBLETALES  $CL_{50}$  96 HRS.**  
**DEL INSECTICIDA ORGANOFOSFORADO ABATE<sup>R</sup> (TEMEPHOS)**  
**EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

**TESIS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN**  
**CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA**

**PRESENTA**

**BIOL. IRMA GALLEGOS MORALES**

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

SEPTIEMBRE 1995.

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DIVISION DE POSTGRADO**

**RESPUESTA HEMATOLOGICA DEL BAGRE DE CANAL *Ictalurus punctatus* (RAFINESQUE, 1818) A EXPOSICIONES SUBLETALES  $CL_{50}$  96 HRS. DEL INSECTICIDA ORGANOFOSFORADO ABATE<sup>R</sup> (TEMEPHOS) EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

**TESIS**  
**COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**CON ESPECIALIDAD EN**  
**ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA**

**PRESENTA**  
**BIOL. IRMA GALLEGOS MORALES**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.**

**SEPTIEMBRE 1995.**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**DIVISION DE POSTGRADO**

**RESPUESTA HEMATOLOGICA DEL BAGRE DE CANAL *Ictalurus punctatus***  
**(RAFINESQUE, 1818) A EXPOSICIONES SUBLETALES CL<sub>90</sub> 96 HRS. DEL**  
**INSECTICIDA ORGANOFOSFORADO ABATE<sup>R</sup> (TEMEPHOS) EN CONDICIONES DE**  
**LABORATORIO**

**TESIS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD**  
**ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA**

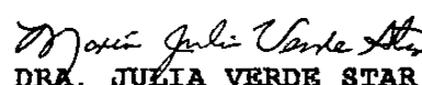
**PRESENTA**

**BIOL. IRMA GALLEGOS MORALES**

**COMITE DE TESIS:**

  
**M.Sc. ARCADIO VALDEZ GONZALES**  
**PRESIDENTE**

  
**M.Sc. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ**  
**SECRETARIO**

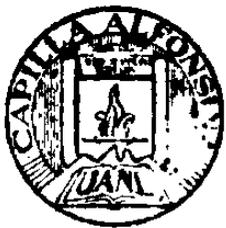
  
**DRA. JULIA VERDE STAR**  
**VOCAL**



2125T OC 107

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

SEPTIEMBRE, 1995



**FONDO TESIS**

# **D E D I C A T O R I A S**

## **A DIOS**

Por darme la vida y colmarme de bendiciones

## **A MIS PADRES**

Por su amor, cariño y apoyo  
a lo largo de mi vida, e impulsarme  
a seguir adelante cada día.

## **A MI ESPOSO**

Por su amor, confianza y dedicación  
para salir juntos adelante y ser  
importante en mi vida, te amo.

## **A MIS HERMANOS**

Por su cariño y apoyo para que  
siempre saliera adelante  
mil gracias

## **A MIS AMIGOS**

Por su amistad

## **A G R A D E C I M I E N T O S**

Al M. en C. Arcadio Valdéz González, por su valiosa asesoría, amistad y confianza brindada para la realización de éste trabajo.

A la Dra. Ma. Julia verde Star, por ser parte del comité de tesis, sugerencias y por su amistad, además de las facilidades brindadas a lo largo de mis estudios de maestría.

Al M. en C. Roberto Mercado Hernández, por su dedicación, comentarios en la parte estadística del trabajo además por su amistad brindada.

Al Biol. Fco. Javier Alvarez mendoza, por su amistad, colaboración, apoyo y revisión del trabajo.

A los MC. José Abrahám Cabrera Feregrino y MC. Rafael Angulo Pineda por su ayuda desinteresada en la realización del trabajo de laboratorio, comentarios y escrito del documento final.

A los maestros del programa de graduados de la F.C.B. por su amistad y conocimientos transmitidos.

A mis compañeros de Maestría y de los Laboratorios de Acuicultura y Morfología por su amistad y apoyo.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por su apoyo económico para la realización de mis estudios de maestría.

A todas aquellas personas, que de una u otra manera colaboraron en la realización de éste trabajo

## INDICE:

	<b>Página</b>
INTRODUCCION	1
IMPORTANCIA	3
OBJETIVOS	4
ANTECEDENTES	5
ORIGINALIDAD	9
HIPOTESIS DE TRABAJO	9
ACCION DEL INSECTICIDA	10
CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DEL ABATE <sup>R</sup> (TEMEPHOS)	11
DESCRIPCION DE LA ESPECIE	12
MATERIAL Y EQUIPO:	14
METODOLOGIA:	15
1).- DESCRIPCION DEL PROYECTO	15
2).- PRUEBAS DE TOXICIDAD	15
3).- HEMATOLOGIA	16
a).-MICROHEMATOCRITO	16
b).- PROTEINA TOTAL DEL PLASMA	16
c).- HEMOGLOBINA	16
d).- RECUENTO DIFERENCIAL	17
4).- ANALISIS DE RESULTADOS	17
RESULTADOS:	18
PRUEBAS DE TOXICIDAD	18
HEMATOLOGIA	20
DISCUSIONES	27
CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	31
LITERATURA CONSULTADA	32
ANEXOS Y GRAFICAS	36

## INDICE DE TABLAS:

	<b>Página:</b>
TABLA 1: Mortalidad (%) del bagre de canal ( <i>Ictalurus punctatus</i> ) expuesto al insecticida Abate <sup>R</sup> (temephos).	18
TABLA 2: Estadística descriptiva de Microhematocrito (%)	20
TABLA 3: Estadística descriptiva de Proteína Total del Plasma (gr/dl)	21
TABLA 4: Estadística descriptiva de Hemoglobina (gr/100 ml)	22
TABLA 5: Estadística descriptiva de Trombocitos (%)	24
TABLA 6: Estadística descriptiva de Linfocitos (%)	24
TABLA 7: Estadística descriptiva de Neutrófilos (%)	24
TABLA 8: Estadística descriptiva de Monocitos (%)	25
TABLA 9: Estadística descriptiva de Basófilos (%)	25
TABLA 10: Estadística descriptiva de Eosinófilos (%)	26

## **ANEXOS:**

- ANEXO 1:** Comparación de la susceptibilidad del bagre de canal a diferentes insecticidas organofosforados ( $LC_{50}$ -96 Hrs) en ppm.
- ANEXO 2:** Grados de toxicidad de insecticidas organofosforados en peces,  $LC_{50}$  en ppb.
- ANEXO 3:** Comparación de medias hematológicas entre concentraciones.
- ANEXO 4:** Tratamientos con diferencia significativa por rangos múltiples de Tukey.
- ANEXO 5:** Comparación de medias del recuento diferencial.

## INDICE DE GRAFICAS

- GRAFICA 1: Porcentaje de mortalidad del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*)
- GRAFICA 2: Mortalidad de *Ictalurus punctatus* expuesto a diferentes concentraciones de Abate<sup>R</sup> (Temephos)
- GRAFICA 3: Medias hematológicas de *Ictalurus punctatus* tratados con Abate<sup>R</sup> (Temephos)
- GRAFICA 4: Medias hematológicas de 10 ppm de *Ictalurus punctatus* tratados con Abate<sup>R</sup> (Temephos)
- GRAFICA 5: Medias hematológicas de 20 ppm de *Ictalurus punctatus* tratados con Abate<sup>R</sup> (Temephos)
- GRAFICA 6: Medias hematológicas de 30 ppm de *Ictalurus punctatus* tratados con Abate<sup>R</sup> (Temephos)
- GRAFICA 7: Medias del recuento diferencial del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) con diferencia significativa
- GRAFICA 8: Medias del recuento diferencial del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) sin diferencia significativa

## **INTRODUCCION:**

La contaminación por plaguicidas en los ecosistemas acuáticos afecta no solo a las comunidades de hidrobiontes, sino también altera la calidad del agua para su consumo directo y produce un impacto negativo en actividades productivas como son la pesca y la acuicultura. El indiscriminado uso de pesticidas ha dado como resultado la contaminación del agua, aire, suelo y alimentos. Los pesticidas son compuestos sintéticos o naturales usados para el control de animales y plantas considerados adversos (plagas) a la sociedad humana. La contaminación del agua por pesticidas es principalmente a través de escurrimientos de suelos tratados, descargas industriales y residuos domésticos; otras fuentes incluyen precipitados de la atmósfera contaminada y aplicación de pesticidas en superficies acuáticas con diferentes propósitos o en forma accidental. Muchos son absorbidos por materiales suspendidos o sedimentados por organismos acuáticos; otros tienen afinidad y son acumulados en lípidos de plantas acuáticas y los que son extremadamente estables (organoclorados y sus derivados) permanecen en los ecosistemas por periodos excepcionalmente largos. Los peces pueden acumular estos componentes por absorción directa o a través de la cadena alimenticia.

Los derivados fosforados ocupan hoy día, un lugar preponderante entre los pesticidas más conocidos y utilizados, constituyendo uno de los grupos más investigados. El Abate<sup>R</sup> es empleado para el control de larvas de mosquitos de numerosas especies y otras plagas de insectos transmisores de enfermedades al hombre, ya que posee baja toxicidad para mamíferos, peces y aves.

Los compuestos organofosforados tienen dos efectos subletales en los peces: la pérdida de fortaleza y resistencia física, así como una incipiente lordosis y escoliosis debido probablemente a las alteraciones musculares. La pérdida de fortaleza y resistencia pueden tener relación directa con la capacidad de los peces silvestres para eludir a los depredadores y buscar alimento, ambos factores extremadamente importantes en la supervivencia (Post, 1987).

En la detección y evaluación de la contaminación acuática es importante analizar el efecto producido por ésta sobre los organismos, ya que no es posible basar una diagnosis ambiental, considerando exclusivamente las características físicas y químicas del agua, dado que los contaminantes interactúan con los seres vivos, afectándolos en diversos grados y formas, y a su vez, siendo modificados por ellos. La toxicidad de un compuesto depende tanto de la concentración como del tiempo y forma en que se ponga en contacto con los organismos, así como de la fase ó estadio del ciclo biológico en que se encuentran, de aquí que es posible hablar de sustancias con distinto grado de toxicidad. También dicho efecto tiene relación con la diversidad de las especies que componen el ecosistema.

Los bioensayos con organismos acuáticos constituyen una herramienta importante para determinar el grado de toxicidad de efluentes y compuestos químicos aislados, y proporcionan las bases para establecer una legislación en materia de contaminación acuática (American Public Health Association, Inc. 1992).

El estudio de la hematología de peces contribuye significativamente a comprender la fisiología comparativa, relación filogenética, modo de vida del organismo, selección de alimento y otros parámetros ecológicos significativos. Así mismo, la investigación de parámetros hematológicos pueden ser utilizados para diagnosticar procesos fisiológicos anormales en peces, especialmente cuando se utiliza el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) como indicador de aguas dulces contaminadas (Breazile *et al*, 1982).

## IMPORTANCIA

Día a día se incrementa el uso de insecticidas para el control de diversas plagas adversas al hombre, sin embargo es importante considerar los organismos "no blancos" que participan en las exposiciones continuas. El Abate<sup>R</sup> es amplia y libremente utilizado para el control de larvas de mosquitos que causan enfermedades al hombre en diferentes sistemas acuáticos: estanques, pocos profundos, aguas estancadas, charcos, lagos, ríos, entre otros, sin tomar en cuenta la profundidad de los mismos. Cyanamid (1980) y Matsumura (1985) menciona que éste insecticida es "seguro" ya que presenta baja toxicidad en mamíferos, aves y peces e incluso puede ser utilizado en el tratamiento de aguas potable, ya que se supone es inócuo para el hombre. Sin embargo es de vital importancia profundizar más estudios con respecto a los diferente grados de toxicidad que pueden presentarse en la biota acuática, ya que no necesariamente se puede considerar seguro un compuesto por el hecho de no provocar la muerte, sino al contrario se pueden alterar otros factores importantes en la supervivencia de los mismos.

Por lo anterior éste estudio está enfocado al bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) que es una especie que tiene importancia tanto económica como ecológica; por lo cual se deben conocer aspectos de sanidad. La sanidad a través de técnicas virológicas, bacteriológicas y hematológicas ha dado buenos resultados, siendo ésta última de gran importancia debido a que la sangre participa directa o indirectamente en casi todos los procesos fisiológicos y nutricionales de los organismos, y sus alteraciones en condiciones patológicas indican con frecuencia la existencia de lesiones o mecanismos anormales (Medway, *et al.* 1973). Además, la facilidad con que la sangre puede ser extraída sin lesionar al organismo de manera significativa, hace de su examen un elemento práctico de diagnóstico.

## **OBJETIVOS:**

### **OBJETIVO GENERAL:**

Conocer algunos efectos tóxicos que la aplicación del Abate<sup>R</sup> (Temephos), pueda tener en el bague de canal *Ictalurus punctatus* bajo condiciones de laboratorio.

### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

Determinar las concentraciones subletales  $CL_{50}$  a 24, 48, 72 y 96 horas de exposición del bague de canal *Ictalurus punctatus* al insecticida Abate<sup>R</sup> en condiciones de laboratorio.

Determinar alteraciones en los parámetros hematológicos del bague de canal *Ictalurus punctatus* a exposiciones de  $CL_{50}$  en un periodo de 96 horas en condiciones de laboratorio.

## ANTECEDENTES:

El desarrollo de los insecticidas fosforados data de muchos años atrás; se descubrieron en Alemania, destacando en su estudio el químico Schrader. La comercialización de éstos derivados a escala mundial se efectuó por los E.U.A.; en la síntesis de nuevos derivados y el estudio de su comportamiento bioquímico han participado investigadores americanos y europeos (Barbera, 1976).

En septiembre de 1969 el Abate<sup>R</sup> fue aceptado como larvicida en 14 países incluyendo a México (Cyanamid, 1980).

La O.M.S. (1984), reportó que el temephos es conocido comercialmente como Abate<sup>R</sup>; el cual es un insecticida de gran eficacia como larvicida y de baja toxicidad para los mamíferos.

Matsumura (1985), publicó que el Abate<sup>R</sup> es prácticamente no tóxico a mamíferos; presentando bajo peligro para aves y peces.

Cremllyn (1982), cita como una ventaja importante que tienen los insecticidas organofosforados es que, por lo general se degradan rápidamente con materiales atóxicos de manera que no tienden a acumularse en el ambiente y por lo tanto no pasan a las cadenas alimenticias.

Estudios realizados por el Departamento del Interior de los E.U.A. (Oficina de Pesca y Vida Silvestre), revelaron que el Abate<sup>R</sup> no produce efectos significativos sobre la cadena alimenticia en aguas tratadas, estableciéndolo como uno de los larvicidas disponibles para el control de mosquitos (Cyanamid, 1980).

Murphy *et al* (1968), reportaron que la toxicidad aguda por insecticidas organofosforados en vertebrados produce inhibición de la Acetilcolinesterasa.

Benke *et al* (1974), compararon la toxicidad de dos insecticidas: metilparatión y paratión en ratas y el pez luna, determinando que en ambos se inhibe la Acetilcolinesterasa. En el pez luna, a concentraciones de 2500 mg/kg de metilparatión, se produjo 85% de inhibición de la colinesterasa en el cerebro; y 62 % de colinesterasa muscular.

Hesser (1960), publicó que al igual que en los mamíferos, hay evidencias de que niveles y formas anormales de eritrocitos están asociados con patología en peces, indicando que el hematocrito es una prueba ideal en su hematología, ya que en ella se requiere de una pequeña cantidad de sangre.

Wydosky y Wedemeyer (1976), determinaron que el metabolismo y la regulación iónica a través de la química sanguínea en peces, son medios de identificación, en la cual las condiciones anormales en el ambiente producen estrés en los organismos, concluyendo que los peces son indicadores de la calidad del agua.

Cameron (1970), reportó que los plaguicidas y otros contaminantes, causan alteraciones en sangre y otros tejidos de los peces.

Wedemeyer y Yasutake (1977), publicaron que el estrés provocado en los peces por factores ambientales, contaminantes y enfermedades, disminuyen los valores de hemoglobina, hematocrito y proteína del plasma, presentándose anemia y hemodilución. Cuando los valores son altos se produce hemoconcentración y policitemia.

Brown (1978), reportó que los peces bajo la influencia de compuestos organofosforados en el agua, presentan metabolismo alterado, nado errático, seguido de inmovilización. Determinó, que la carpa plateada expuesta a concentraciones subletales del malatión por dos días,

mostró 20% de reducción en el hematocrito y 50 a 60% de reducción en linfocitos heterófilos y en el total de leucocitos; en el pez agallas azules expuesto al malatión, la colinesterasa cerebral se inhibió de 30 a 50%; la inyección de 2.5 mg/k de malaoxón en el pez luna y el agallas azules causó 48% de inhibición de la colinesterasa cerebral; alevines del Salmón del atlántico expuesto al Temephos durante 24 horas mostraron disminución de reflejos y fueron menos activos.

Kurtz y Weeks (1979), determinaron que el Abate<sup>R</sup> produjo un decremento significativo en la cantidad de eritrocitos, plasma, inhibición de la colinesterasa y disminución espontánea de la actividad motora en ratas, cuando se les inyectó 1000 mg/kg de Abate<sup>R</sup> durante 16 días.

Mishra y Srivastava (1983), reportaron que los insecticidas causan anomalías hematológicas y cambios en el suero proteínico de la sangre y aminoácidos libres; El determinó que el malathión provocó movimientos erráticos, nerviosismo, secreción de mucus, dilatación de pupilas y coloración pálida en el bagre de la india (*Heteropneustes fossilis*) expuesto a concentraciones de 7.6 ppm. de malathión durante un periodo de 96 hrs. Los peces desarrollaron eritropenia, leucopenia y una reducción significativa en el contenido de hemoglobina y hematocrito.

Garofano (1982), indicó que los peces se pueden usar como monitores de cuerpos de agua contaminados con cadmio; mostró que el cloruro de cadmio a altas concentraciones tiene efectos inmediatos en el sistema circulatorio del bagre cabeza de toro (*Ictalurus nebulosus*), produciendo una baja en los eritrocitos y aumento de leucocitos.

Breazile, et al (1982), en su estudio del perfil hematológico del bagre de canal, encontró en el recuento diferencial, que los monocitos comprendieron menos del 1 %; neutrófilos 7 %, trombocitos 54.9 % y linfocitos 37.5 % del total de células blancas.

Srivastava y Mishra (1985), indicaron que los insecticidas producen cambios hematológicos en los peces; encontrando que el lindano produce alteraciones en el mecanismo

homeostático, cuando expuso bagre de la india (*Heteropneustes fossilis*) a concentraciones de 0.234 mg/lt. por 96 horas, induciendo eritropenia y leucopenia en los organismos, causando así mismo trombocitosis e hipercoagulabilidad total de la sangre.

Plestina (1986), reportó que los signos de intoxicación en humanos por insecticidas organofosforados son: debilidad muscular, náuseas, temblores, mareos, sudoración, ansiedad y convulsiones.

Campbell (1988), en su trabajo de hematología y citología en peces menciona que los basófilos y eosinófilos son raramente vistos en la periferia de la sangre de los peces, siendo poco las especies que los presentan.

Ainsworth, et al (1991), determinaron en el bagre de canal, cuando es sometido a estrés, se incrementan los neutrófilos de 4 % a 21% , así mismo los linfocitos se ven reducidos de 39.8 % a 24.6 %, siendo alterada la respuesta inmune de los mismos.

## **ORIGINALIDAD**

En México no se tienen reportes de los daños hematológicos que causa el Abate<sup>R</sup> (Temephos) en organismos "no blanco;" específicamente sobre el bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), cuando es utilizado en controles epidemiológicos.

## **HIPOTESIS DE TRABAJO:**

La hematología del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) se ve alterada al ser expuesto a diferentes concentraciones del Abate<sup>R</sup> (Temephos) en períodos de exposición de 96 horas.

## **ACCIÓN DEL INSECTICIDA:**

Todos los derivados fosforados presentan similitud en su acción, la cual se realiza sobre la colinesterasa (ACHE), que hidroliza la acetilcolina (ACH) en las uniones nerviosas hasta colina. En ausencia de acetil-colinesterasa efectiva, la acetil-colina liberada se acumula e impide la transmisión continua de impulsos nerviosos a través del espacio sináptico en las uniones nerviosas; esto ocasiona la pérdida de coordinación muscular, convulsiones y finalmente la muerte (Cremlyn, 1982).

El principal efecto toxicológico de los insecticidas organofosforados en peces es su unión a la colinesterasa, en especial de la acetilcolinesterasa (ACHE). La ACHE es esencial para la destrucción del exceso de Acetilcolina (ACH), en la sinapsis muscular a la que sigue la contracción muscular. Los impulsos nerviosos que entran en las placas terminales de las fibras musculares opositoras no pueden continuar en el músculo hasta que la ACH sea secretada por la sinapsis; la secreción de la ACH permite continuar el impulso nervioso, provocando la contracción muscular. Normalmente los paquetes musculares permanecen en un estado de contracción, debido a la transmisión continua del impulso nervioso, hasta que éste es detenido involuntariamente por el Sistema Nervioso Central y la hidrólisis de la ACH que permanece dentro de la sinapsis, ésta hidrólisis la realiza la ACHE. Los insecticidas organofosforados se unen firmemente a la ACHE, eliminando la efectividad de ésta enzima para eliminar por hidrólisis los restos de ACH. Los paquetes musculares permanecen en continuo estado de contracción hasta quedar completamente exhaustos, (Post, .1987). Los síntomas de envenenamiento por el insecticida ocurren rápidamente después de una sobre dosis o sobre exposición única a estos productos, generalmente dentro de 30 a 60 minutos. Sin embargo, pueden retenerse de dos a tres horas si el insecticida penetra al cuerpo por la piel. Algunos compuestos pueden retenerse en los tejidos adiposos del cuerpo, éstos tienden a posponer y prolongar la aparición de los síntomas, ya que el material retenido se libera lentamente hacia la circulación sanguínea. los primeros síntomas de intoxicación (en humanos) son náuseas, dolor de cabeza, cansancio extremo y debilidad, con algo de confusión mental y falta de coordinación muscular. Los insecticidas organofosforados son los responsables de más casos de envenenamiento que todos los demás plaguicidas (Plestina, 1986).

## CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DEL ABATE<sup>R</sup>:

Nombre químico:	0,0,0,0-tetrametil 0,0-ditio-fenileno fosforotioato
Fórmula empírica:	$C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$
Peso molecular:	466,4
Color y estado:	
Grado analítico:	material sólido cristalino, blanco.
Grado técnico:	líquido viscoso, de color marrón.
Punto de fusión:	30.0 a 30.5 °C
Pureza:	90 a 95 %
Peso específico:	1.32
Solubilidad:	Soluble en acetonitrilo, tetracloruro de carbono, éter, dicloruro de etileno, alquil cetonas inferiores y tolueno. Insoluble en hexano, metil-ciclohexano y agua.
Estabilidad:	Parece ser estable indefinidamente a temperatura ambiente; moderadamente estable a la hidrólisis en contacto con soluciones alcalinas; no se observa hidrólisis a pH de 8.0 en temperatura ambiente durante varias semanas ó a pH de 11.0 a 40 °C.

(Cyanamid, 1980)

## DESCRIPCION DE LA ESPECIE:

### Posición taxonómica:

Reino:	Animal
Phylum:	Chordata
Subphylum:	Gnathostomata
Clase:	Osteichthyes
subclase:	Actinopterygii
Orden:	Teleosteos
Suborden:	Siluroidei
Familia:	Ictaluridae
Género:	<i>Ictalurus</i>
Especie:	<i>punctatus</i>
Nombre común:	Bagre de canal

### Descripción morfológica:

Presenta una cabeza grande y gruesa que representa del 19 al 24% de la longitud total, ojos pequeños y hocico largo, equivalente a un 42% del tamaño de la cabeza. El labio inferior es algunas veces papiloso, con un par de barbas negras además de cuatro pares que inician en el ángulo de la boca. En la parte dorsal del cuerpo presenta una coloración del azul negruzco al verde oliva, costados plateados y puntos oscuros. Cuerpo comprimido lateralmente, por atrás de las aletas pélvicas es más alto y estrecho que otras especies. Posee branquiespinas largas muy espaciadas de 14 a 18 normalmente, aleta dorsal colocada por delante de la mitad del cuerpo, radios blandos con una espina modificada y fuerte, la aleta anal con 8 radios.

**Distribución:**

El bagre de canal es una especie Neártica, se distribuye desde los grandes lagos en Canadá, sureste de los Estados Unidos y noroeste de México Hasta el río Pánuco (Lee et al, 1980) Por ser una especie de importancia comercial, es objeto de programas de acuicultura y en la actualidad se ha distribuido en gran parte del territorio nacional.

**Hábitat:**

Preferentemente en presas, lagos o ríos caudalosos con aguas claras, frescas y fondo de grava y arena; evita los cuerpos de agua poco profundos con vegetación densa. Se caracteriza por ser una especie de hábitos nocturnos, por lo que en el día nada en el fondo refugiándose en las fosas profundas de los embalses.

## **MATERIAL Y EQUIPO:**

### **MATERIAL BIOLÓGICO**

550 Ejemplares de bagre de canal *Ictalurus punctatus*.

### **REACTIVOS:**

329ml. de Abate<sup>R</sup> ( presentación comercial líquida al 5% de concentración)

Metanol (Merck)

Colorante Giemsa (Merck)

Tricain Metano Sulfonato (MS-222)

Aceite de inmersión.

### **EQUIPO:**

Balanza granataria electrónica marca OHAUS modelo E 400

Microcentrífuga (Sol-Bat aparatos científicos de 11, 000 RPM modelo PL -16)

Refractrómetro (National Instruments Company, Inc. Modelo 100/B).

Hemoglobinómetro (Buffalo Medical Specialties MFG Inc. Modelo 10-101)

Hemolizadores (Cida reorder C1210)

Capilares heparinizados de 75mm de largo y 1.5 de mm de diámetro interno.

Portaobjetos de 75X25mm

Microscopio óptico (Olimpus CH2)

Estuche de disección.

Oxímetro marca HORIBA.

Conductímetro digital portátil marca Omega

Termómetro digital portátil.

Papel indicador pH

Vernier

Lápiz punta de diamante.

Piletas de fibra de vidrio de 2.5 mts de largo X 1.5 mts de ancho.

Mangueras de 3.81 cm de diámetro (1.5"), Aireadores,

Alimento balanceado Bagrina.

## **METODOLOGIA**

### **DESCRIPCION DEL PROYECTO:**

Este trabajo se realizó en las instalaciones de los Laboratorios de Acuicultura y Morfología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Consistió de dos fases: determinación de pruebas de toxicidad y determinación de parámetros hematológicos, utilizando ejemplares de bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), los cuales se adquirieron en el Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora. Los peces se aclimataron por un período de doce días antes de iniciar las pruebas de toxicidad, alimentándose diariamente con bagrina (alimento balanceado) y manteniendo un control de las condiciones fisicoquímicas del agua (temperatura, oxígeno disuelto, pH), las cuales fueron medidas diariamente, permaneciendo dentro de los rangos preestablecidos.

### **1.- PRUEBAS DE TOXICIDAD:**

Para la realización de los bioensayos se utilizaron 3 piletas, de 2.5m de largo X 1.5m de ancho X 0.4m de altura (equivalente a 1084 lt. de agua), las cuales tenían un sistema de aireación constante, recirculación a base de mangueras que permitió mantener homogéneo la solución de agua con Abate<sup>R</sup>. Dos de las piletas contenían tres jaulas, cada una elaboradas con tul y un soporte de madera utilizadas para las repeticiones. El diseño experimental consistió en ocho concentraciones de Abate<sup>R</sup> ( 10, 20, 30, 33, 35, 40, 50 y 100 ppm ) de 20 peces cada una con tres réplicas, con un tiempo de exposición de 96 horas; además de un grupo control que se mantuvo en la tercer pileta con las mismas condiciones fisicoquímicas. Antes de iniciar las pruebas a los peces se les tomaron datos biométricos como: peso (gr), longitud total (cm) y longitud patrón (cm.).

## **2.- HEMATOLOGIA**

Para la determinación de los parámetros hematológicos se procedió según los métodos de rutina de Hesser, 1960 y Houston, 1990. La Hematología se determinó en peces expuestos a concentraciones de 10, 20 y 30 ppm además del control; en las otras concentraciones ( 33, 35, 40, 50 y 100) los peces no sobrevivieron las 96 horas. Los bagres fueron anestesiados con Tricain Metano Sulfonato (MS-222) , tomándoles así mismo sus datos biométricos.

### **a).- MICROHEMATOCRITO:**

La sangre fué obtenida seccionando el pedúnculo caudal, colectándola mediante capilares heparinizados de 75 mm ( dos capilares por pez), ya que los peces tenían una talla menor de 10 cm de longitud total (Blaxhall y Daisley 1973). Los capilares fueron sellados en un extremo con critoseal , posteriormente fueron centrifugados a 11,000 RPM. durante 5 minutos y luego se hizo la lectura con lector del microhematocrito, cuyo valor está dado en % de globulos rojos en el volumen total del plasma.

### **b).- PROTEINA DEL PLASMA:**

Los capilares utilizados en el Microhematocrito fueron cortados a nivel del volumen celular con un lápiz diamante para separar el plasma, el cual se colocó en la celda del refractómetro para su lectura la cual está dada en como proteína total del plasma en gr/dl.

### **c).- HEMOGLOBINA:**

La hemoglobina se determinó por el método del hemoglobinómetro (Buffalo Medical Specialties, con rango de lectura de 4 a 20 mg/100ml en escala de 2 mg/100ml), el cual consistió en colocar una gota de sangre de los capilares en la cámara, la cual se hemolizó durante 30 segundos con aplicadore que contienen en un extremo saponina que actúa rompiendo la célula;

se cubre y se coloca el clip en la cámara del hemoglobínómetro. Por fotometría se obtiene la lectura la cual está dada en gr/100ml.

**d).-- RECUESTO DIFERENCIAL:**

Se realizaron frotis, colocando una gota de sangre en un portaobjetos, la cual es extendida con otro portaobjetos en un ángulo agudo; el frotis se secó al aire, se fijó en metanol durante 10 minutos; posteriormente se tiñó por el método de Giemsa. Para el recuento de células se utilizó un microscopio óptico en objetivo de inmersión, contando las células blancas en toda la extensión del portaobjetos y así obtener la proporción en % de trombocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos por cada 100 células blancas

**3.-- ANALISIS DE RESULTADOS:**

A los resultados obtenidos se les determinaron las estadísticas descriptivas (medias, rangos, valor máximo y mínimo, desviación estándar y varianza). Para establecer diferencia entre el control y los tratamientos, así como entre las réplicas, se realizó un análisis de varianza por comparación de medias y rango múltiple de Tukey a nivel de significancia de 0.05 (Steel y Torrie 1985; Quiroz y Fournier, 1988: Programa estadístico SPSS).

## RESULTADOS

### 1.- PRUEBAS DE TOXICIDAD:

Un total de 480 peces con peso promedio de  $6 \pm 1$  gramos y  $9 \pm 1$  cm. de longitud, fueron expuestos a diferentes concentraciones de Abate<sup>R</sup> (Temephos), en presentación comercial líquida al 5% de concentración. Las sintomatologías presentadas por los peces inmediatamente de ser expuestos fueron: Pérdida de equilibrio y de reflejos, nado errático, coloración pálida, abdomen distendido, convulsiones, apatía ó falta de respuesta ante la presencia humana, vibraciones, ruidos y finalmente la muerte. El porcentaje de mortalidad obtenido se presenta en la tabla y gráfica 1. A 100 ppm se presentó 100% de mortalidad a la hora y media de exposición. En las concentraciones de 35, 40 y 50 ppm, se presenta mortalidad del 100% a las 24 horas de exposición. A 33ppm se presenta una mortalidad de más de 50% de la población (63.3%) a las 24 horas. A concentraciones de 10, 20 y 30 ppm sobrevive más del 90% de los peces en un periodo de 96 horas. Determinandose una  $LC_{50}$  (24 hrs) de 32.5 ppm de Abate<sup>R</sup>, para el bagre de canal *Ictalurus punctatus* Graficas 1 y 2.

TABLA 1. Mortalidad (%) del bagre de canal ( <i>Ictalurus punctatus</i> ) expuesto al insecticida Abate <sup>R</sup> (Temephos)				
Concent.	Tiempos de exposición			
	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.
10 ppm	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
20 ppm	0.0000	0.0000	0.0000	8.3300
30 ppm	0.0000	0.0000	0.0000	8.3300
33 ppm	0.0000	63.3000	100.0000	- - - - -
35 ppm	100.0000	- - - - -	- - - - -	- - - - -
40 ppm	& 100.0000	- - - - -	- - - - -	- - - - -
50 ppm	" 100.0000	- - - - -	- - - - -	- - - - -
100 ppm	* 100.0000	- - - - -	- - - - -	- - - - -

Mortalidad en: & = 18.0 hrs.; " = 10.0 hrs.; \* = 1.5 hrs.

Uno de los objetivos particular era, el de determinar las  $LC_{50}$  a diferentes tiempos de exposición, sin embargo solo se obtuvo la  $LC_{50}$  a las 24 horas, debido a que a medida que se aumentaba las concentraciones la mortalidad era mayor del 50% antes de las 24 horas. En periodos de 96 horas sobrevivió más del 90% los peces, sin embargo, si se exponen por más tiempo, la mortalidad se presenta de todas formas, aunque sean colocados en agua libre del insecticida. Por lo tanto concentraciones de Abate<sup>R</sup> que no se demuestren como tóxicos en 96 horas, pueden serlo bajo condiciones de exposición continua.

La toxicidad de los organofosforados varia con las diferentes especies y aún entre las mismas. En el anexo 1 se muestra la susceptibilidad del bagre de canal a cuatro insecticidas organofosforados. En el anexo 2, se observa ejemplos de toxicidad en diferentes especies a compuestos organofosforados.

\* Con respecto a las condiciones fisicoquímicas del agua, éstas no mostraron variaciones significativas en el transcurso de los bioensayos, siendo los valores medio: Temperatura  $24.4 \pm 1^\circ\text{C}$ , Oxígeno Disuelto  $5.8 \pm 1$  mg/l, pH de 7.5.

## 2.- HEMATOLOGIA:

### a).- MICROHEMATOCRITO (%)

A un total de 124 peces se les determinó el paquete de volumen celular o microhematocrito, incluyendo el grupo control (n= 26) y los expuestos a concentraciones de 10, 20 y 30 ppm de Abate<sup>R</sup> durante 96 horas.

Las estadísticas descriptivas se muestran en la tabla 2, observando valores inferiores en los tratamientos con respecto al grupo control. El valor promedio más bajo fué de 25.02% correspondiente a los peces expuestos a 30 ppm, si consideramos el valor medio del grupo control (35.4231) como un 100%, observamos que el microhematocrito se reduce de un 11.36% en 10 ppm hasta un 20.35% en la concentración más alta (30 ppm) con respecto al grupo control considerado como normal.

<b>TABLA 2. Estadística descriptiva de Microhematocrito (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	35.4231	31.4000	27.9706	25.0294
<b>D. Std.</b>	2.3862	2.1270	2.2359	1.6234
<b>E. Est.</b>	0.4680	0.3883	0.3834	0.2784
<b>Var.</b>	5.6938	4.5241	4.9991	2.6355
<b>Rango.</b>	30.0-40.0	26.0-35.0	22.0-32.0	20.0-28.0

**b).- PROTEINA TOTAL DEL PLASMA (gr/dl)**

La tabla 3, muestra las estadísticas descriptivas de los valores obtenidos en 124 peces, 98 de los cuales fueron expuestos a diferentes concentraciones de Abate<sup>R</sup> en un período de 96 horas, obteniéndose valores medio de 6.39 gr/dl para el grupo control; la proteína más baja fué de 2.17 gr/dl, correspondiente a los peces en 30 ppm del insecticida, siendo reducida desde un 39.08% en la concentración más baja hasta 65.96% en la más alta, lo cual indica que el Abate<sup>R</sup> altera de manera significativa las proteínas totales en el plasma de ésta especie en particular.

<b>TABLA 3. Estadística descriptiva de P. T. (gr/dl)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	6.3846	3.8900	3.1647	2.1729
<b>D. Std.</b>	1.5252	0.7854	0.4104	0.3627
<b>E. Est.</b>	0.2991	0.1434	0.7040	0.6220
<b>Var.</b>	2.3262	0.6168	0.1684	0.1316
<b>Rango.</b>	4.6-11.2	1.8-5.5	2.2-4.0	1.4-3.2

**c).- HEMOGLOBINA (gr/100 ml):**

La tabla 4, muestra las estadísticas descriptivas de la hemoglobina para el bagre de canal expuestos a concentraciones de 10, 20 y 30 ppm del insecticida Abate<sup>R</sup>, así como el control, encontrándose que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos y el testigo, obteniendo el valor medio más bajo a 30 ppm de 4.91 gr/100ml. En las concentraciones de 20 y 30 ppm la Hb no varía significativamente, sin embargo cabe hacer mención que a 30ppm hubieron muestras con valores menores de 4 gr/100ml pero debido al rango del Hemoglobinómetro (4 - 20 mg/lit) las lecturas no fueron detectadas. El porcentaje de reducción de éste parámetro fué de de 36.74 , 45.31 y 46.12% en las concentraciones de 10, 20 y 30 respectivamente.

	CONCENTRACIONES			
	Control	10 ppm	20 ppm	30 ppm
<b>Media</b>	9.1154	5.7667	4.9853	4.9118
<b>D. Std.</b>	0.4756	0.4498	0.4998	0.4682
<b>E. Std.</b>	0.933	0.821	0.857	0.803
<b>Var.</b>	0.2262	0.2023	0.2498	0.2193
<b>Rango</b>	8.5-10.5	4.0-6.5	4.0-6.0	4.0-6.0

En el anexo 3 y gráfica 3, se observa de manera general, las comparaciones de medias del microhematocrito, proteína del plasma y hemoglobina, lo cual nos dá una visión más amplia de las diferencias encontradas en este trabajo y del efecto que tiene el Abate<sup>R</sup> sobre la hematología del bagre de canal *Ictalurus punctatus*.

Dentro de las réplicas para cada concentración de Abate<sup>R</sup> utilizados, no se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las medias de los valores del microhematocrito, proteína del plasma y hemoglobina. Gráficas 4, 5, y 6. En el Anexo 4 se observan las diferencias obtenidas por rango múltiple de Tukey para cada grupo de tratamiento a nivel de significancia de 0.05.

#### **RECUESTO DIFERENCIAL (%):**

A un total de 75 frotis sanguíneo se les realizó el recuento diferencial, determinando la proporción de trombocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos. Las tablas 5, 6, 7, 8, 9 y 10, muestran las estadísticas descriptivas para las medias de cada tipo de células blancas encontradas.

El total de células blancas de los peces control están representada mayormente por los trombocitos con valores medios de 50.9% (rango 33-59%), pero al ser expuestos al Abate<sup>R</sup>, estos valores se incrementan hasta 79.8947% (rango 69-92) en la concentración de 30 ppm (Tabla 5); en segundo lugar le siguen los linfocitos que son las células que proveen al cuerpo sus defensas inmunológicas, con valor medio de 42.8 (rango 36-54), aquí a diferencia de los primeros el Abate<sup>R</sup> causa reducción altamente significativa llegando hasta de 8.15% (rango de 2-14%) en la concentración más alta (Tabla 6). Los neutrófilos están poco representados, el valor medio fue de 0.6% para el control, aumentando a causa del insecticida en las diferentes concentraciones hasta un valor medio de 10.73% (rango 3-20%). A 10 ppm la variación fue menor comparada con las otras dos (Tabla 7).

<b>TABLA 5. Estadística descriptiva de Trombocitos (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	50.9000	65.0000	75.8667	79.8947
<b>D. Std.</b>	8.8374	9.8684	5.9984	6.3761
<b>E. Est.</b>	2.7946	2.6374	1.5488	1.4628
<b>Var.</b>	78.1000	97.3846	35.9810	40.6550
<b>Rango.</b>	33.0-59.0	50.0-80.0	60.0-86.0	69.0-92.

<b>TABLA 6. Estadística descriptiva de Linfocitos (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	42.8000	15.2143	14.4667	8.1579
<b>D. Std.</b>	4.9844	3.4681	7.5486	3.4843
<b>E. Est.</b>	1.5762	0.9269	1.9490	0.7994
<b>Var.</b>	24.8444	12.0275	56.9810	11.1404
<b>Rango.</b>	36.0-54.0	8.0-21.0	2.0-28.0	2.0-14.0

<b>TABLA 7. Estadística descriptiva de Neutrófilos (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	0.6000	1.3571	10.5333	10.7368
<b>D. Std.</b>	1.0750	1.7805	4.0860	5.8769
<b>E. Est.</b>	0.3399	0.4759	1.0550	1.3483
<b>Var.</b>	1.1556	3.1703	16.6952	34.5380
<b>Rango.</b>	0.0-3.0	0.0-5.0	5.0-19.0	3.0-20.0

Con respecto a los monocitos, basófilos y eosinófilos, éstos fueron raros en la periferia de la sangre de los peces control, por lo cual no podemos afirmar que el Abate<sup>R</sup> pueda causar alguna alteración (Tablas 8, 9, 10), sin embargo se nota la presencia de basófilo solamente en la concentración más alta de 30 ppm (Tabla 8)

<b>TABLA 8. Estadística descriptiva de Monocitos (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	0.2000	0.1429	0.0667	0.1053
<b>D. Std.</b>	0.6325	0.5345	0.2582	0.3153
<b>E. Est.</b>	0.2000	0.1429	0.6670	0.7230
<b>Var.</b>	0.4000	0.2857	0.0667	0.9940
<b>Rango.</b>	0.0-2.0	0.0-2.0	0.0-1.0	0.0-1.0

<b>TABLA 9. Estadística descriptiva de Basófilos (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	0.0000	0.0000	0.0000	0.1053
<b>D. Std.</b>	0.0000	0.0000	0.0000	0.3153
<b>E. Est.</b>	0.0000	0.0000	0.0000	0.7230
<b>Var.</b>	0.0000	0.0000	0.0000	0.9940
<b>Rango.</b>	0.0000	0.0000	0.0000	0.0-1.0

<b>TABLA 10. Estadística descriptiva de Eosinófilos (%)</b>				
	<b>CONCENTRACIONES</b>			
	<b>Control</b>	<b>10 ppm</b>	<b>20 ppm</b>	<b>30 ppm</b>
<b>Media</b>	0.1000	0.0000	0.0000	0.1579
<b>D. Std.</b>	0.3162	0.0000	0.0000	0.5015
<b>E. Est.</b>	0.1000	0.0000	0.0000	0.1150
<b>Var.</b>	0.1000	0.0000	0.0000	0.2515
<b>Rango.</b>	0.0-1.0	0.0000	0.0000	0.0-2.0

En forma general, se encontró que los grupos que tienen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al control, son los trombocitos, neutrófilos y linfocitos, no siendo así para los monocitos, basófilos y eosinófilos. Anexo 5 y gráficas 7 y 8.

## DISCUSIONES:

Las sintomatologías que presentó el bagre de canal *Ictalurus punctatus* al ser expuesto a 8 concentraciones diferente del insecticida Abate<sup>R</sup> (Temephos) fueron: Pérdida de equilibrio, nado errático, pérdida de coloración, convulsiones, secreción de mucus y estrés, coincidiendo con los resultados obtenidos por Mishra y Srivastava (1983). Por otra parte, los insecticidas organofosforados en general son causantes de la inhibición de la acetilcolinesterasa, la cual es una enzima cuya función es ayudar a regular la actividad de los impulsos nerviosos (Murphy et al, 1968; Browun, 1978 y Kurtz y Weeks, 1979), tal inhibición pudo provocar en los peces las sintomatologías antes mencionadas, además de reducir la actividad motora

Los parámetros hematológicos del bagre de canal fueron de manera general alterados al ser expuestos a diferentes concentraciones de Abate<sup>R</sup>, lo que coincide con los trabajos de Cameron (1970), Wydosky y Wedemeyer (1976), Wedemeyer y Yasutake (1977).

Los peces tratados con Abate<sup>R</sup> presentaron reducción significativa del contenido de hemoglobina, microhematocrito y proteína total del plasma, estos resultados coinciden con los reportados por Mishra y Srivastava (1983), Srivastava y Misrha (1985).

La anemia que es uno de los signos para inferir la calidad del estado fisiológico de un organismo, es determinada por una disminución en los valores de la hemoglobina, hematocrito y conteo Eritrocitario. Los valores de hemoglobina y Microhematocrito en éste trabajo presentaron diferencias marcadas con respecto al grupo de peces control, lo cual pudiera ser considerada como una anemia, ya que Wedemeyer y Yasutake (1977), mencionan que cuando la concentración de hemoglobina es baja con respecto a un patrón se presentan enfermedades de tipo nutricional, anemias y hemodilución; tal como se presentaron las dos últimas inducidas por la presencia del Abate<sup>R</sup> como se demostró en el presente trabajo.

El desarrollo de la anemia según Mishra y Srivastava (1983), puede ser debido a la interferencia del insecticida organofosforado con la hematopoyesis y/o alteraciones de las membranas de las células por hidrólisis de la acetilcolina.

Por otra parte los valores del microhematocrito disminuyeron significativamente, coincidiendo con Hesser (1960), quien indica que los eritrocitos están asociados a patologías de peces, siendo el microhematocrito un patrón de referencia ideal es éste estudio.

Con respecto a los leucocitos también se presentaron alteraciones a nivel de trombocitos, neutrófilos y linfocitos, no siendo así para los monocitos, basófilos y eosinófilos. Campbell (1988), reporta un porcentaje normal de trombocitos para el bagre de canal de 54%, en éste trabajo fué de 50%, el cual se incremento hasta un 92% en los peces expuestos a 30 ppm de Abate<sup>R</sup>, considerándose ésto como trombocitosis, la cual se presenta cuando los peces son sometidos a algún tipo de estrés.

Los neutrófilos aumentaron hasta un 20%, siendo el rango normal del bagre de canal *Catulus punctatus* entre 7 y 10% (Campbell, 1988). Los valores de linfocitos fueron disminuidos hasta un 8% con rango de 2 a 14% a concentraciones de 30ppm, cuando los valores medios del grupo control estaban entre 35 y 50%. Ellis (1977) y Ainsworth *et al* (1991), mencionan que la neutrofilia va asociada con linfopenia (reducción del número de linfocitos), la cual se relaciona cuando el bagre de canal es sometido a estrés continuo, afectando de igual forma la respuesta inmune en peces.

En relación a los basófilos y eosinófilos su presencia fue rara o escasa, coincidiendo con lo reportado por Campbell (1988).

## CONCLUSIONES

El bagre de canal *Ictalurus punctatus* expuesto a diferentes concentraciones de Abate<sup>R</sup>, presentó pérdida de equilibrio, nado errático, coloración pálida, secreción de mucus, abdomen distendido, convulsiones y finalmente la muerte.

La  $LC_{50}$  a las 24 horas fue de 32.5 ppm del insecticida Abate<sup>R</sup> (Temephos).

Los resultados hematológicos indican que en particular la hemoglobina, el microhematocrito y la proteína total del plasma son parámetros sensibles de respuesta tóxica en el bagre de canal *Ictalurus punctatus* expuestos al insecticida Abate<sup>R</sup> (Temephos).

En el recuento diferencial las células que se ven alteradas son los trombocitos, neutrófilos y linfocitos.

La hematología es una herramienta útil de diagnóstico y control rutinario del estado de salud de los peces, así como en el monitoreo de las condiciones ambientales al detectarse alteraciones producidas en los órganos hematopoyéticos y en elementos celulares de la sangre, ya que ésta participa directa o indirectamente en todos los procesos fisiológicos y nutricionales de los organismos.

Las  $LC_{50}$  pueden ser medidas útiles de toxicidad, pero no representan las concentraciones que son seguras o pocas dañinas en hábitats acuáticos sujetos a contaminación.

Concentraciones de residuos que no se demuestran como tóxicos en 96 horas, pueden serlo en exposiciones continuas en el agua colectora, por lo tanto la  $LC_{50}$  96 horas representa solamente una pequeña fracción de la toxicidad a largo plazo.

Los bioensayos con organismos acuáticos constituyen una opción para determinar el grado de toxicidad de efluentes y compuestos químicos, además proporcionan las bases para establecer una legislación en materia de contaminación acuática.

## **RECOMENDACIONES:**

El Abate resultó ser tóxico para el bagre de canal, alterando fuertemente su fisiología hemática, desde concentraciones de 10 ppm, por lo que se considera necesario:

-- Realizar estudios más profundos acerca de estos temas, incluyendo diferentes especies, así como tallas para establecer diferencias de sensibilidad entre las especies y el grado de desarrollo.

-- Realizar cortes histológicos de los organismos expuestos al contaminante, con la finalidad de determinar posibles daños a nivel de órganos tales como riñón, hígado y branquias.

--Establecer pruebas de toxicidad aguda y crónica, para tener un patrón de referencia con respecto al tiempo de exposición y el grado de toxicidad.

--Evaluar el tiempo de recuperación de ejemplares expuestos a dosis subletales  $CL_{50}$ -96 hrs, para analizar si existen daños irreversibles que presenten mortalidad retardada posterior a 20-90 días

## **LITERATURA CONSULTADA:**

- Ainsworth, A.J., C. Dexiang and P.R. Waterstrat. 1991. **CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTE PERCENTAGES AND FUNTION OF NEUTROPHILS IN STRESSED CHANNEL CATFISH.** Journal of Aquatic Animal Health. 3: 41-47.
- American Public Health Association, Inc. 1992. **METODOS NORMALIZADOS PARA EL ANALISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES.** Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid, España. 8-1 / 8-49 pp.
- Barbera, C. 1976. **PESTICIDAS AGRICOLAS.** 3ª Ed. Omega. España. 569 p.
- Benke, G.M. , K.L. Cheever, F. E. Mirer and S.P. Murphy. 1974. **COMPARATIVE TOXICITY, ANTICHOLINESTERASE ACCION AND METABOLISM OF METHYL PARATHION AND PARATION IN SUNFISH AND MICE.** J. Toxicology and Applied Pharmacology 28: 97-109 p.
- Blaxhall, P.C. and K.W. Daisley 1973. **ROUTINE HAEMATOLOGICAL METHODS FOR USE WITH FISH BLOOD.** J. Fish Biol. 5 : 771-781.
- Breazile, J.E; L.L. Zinn; J.C. Yauk; H.J. Mass and J. Wollscheid. 1982. **A STUDY OF HAEMATOLOGICAL PROFILES OF CHANNEL CATFISH *Ictalurus punctatus* (Rafinesque).** J. Fish Biol. 21: 305-309 p.
- Browun, A.W.A. 1978. **ECOLOGY OF PESTICIDES.** A Wiley-Interscience Publication. Department of Entomology. Michigan State University. U.S.A. 168-195 p.

- Cameron, T.N. 1970. **THE INFLUENCE OF ENVIROMENTAL VARIABLES ON THE HEMATOLOGY ON PINFISH (*Lagodon rhomboides*) AND STRIPED MULLET (*Mugil cephalus*).** Comp. Biochem. Physiol. 32: 175-192 p.
- Campbell, W.T. 1988. **FISH CITOLOGY AND HEMATOLOGY.** Veterinary Clinics of North América: Small animal practise. 18 (2): 349-364.
- Cremllyn, R. 1982. **PLAGUICIDAS MODERNOS Y SU ACCION BIOQUÍMICA.** Limusa. México. 356 p.
- Cyanamid, 1980. **ABATE<sup>®</sup>, INSECTICIDAS EN PROGRAMAS DE SALUD PUBLICA.** Boletín comprensivo de investigación y desarrollo. Departamento de Investigación y Desarrollo. Wayne, New Jersey. 51 p.
- Ellis, A.E. 1977. **THE LEUCOCYTES OF FISH.** A Review J. Fish. Biol. 11: 453-491.
- Garofano, J.S., 1982. **PERIPHERAL EFFECTS OF CADMIUN ON THE BLOOD AND HEAD KIDNEY IN THE BROWN BULHEAD (*Ictalurus nebulosus*).** B. Environ. Contam.Toxicol. 28:552-556p
- Hesser, E.F. 1960. **METHODS FOR ROUTINE FISH HEMATOLOGY.** Bureau of Sport. Fisheries and Wildlife Western fish nutrition laboratory. Washington D.C.
- Houston, A.H. 1990. **BLOOD AND CIRCULATION.** IN: Schreck, C.B. and Moyle. Methods of Fish Biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, U.S.A. Chapter 9: 273-334p.

- Kurtz, J.P. and H.M. Weeks. 1979. **EFFECTS OF SINGLE AND REPETED EXPOSURES TO ABATE ON RAT BEHAVIOR AND CHOLINESTERASE ACTIVITY.**  
Toxicology 13: 35-43 p.
- Lee, D.S.; C.R. Gilbert; C.H. Hocutt; R.E. Jenkins; D.E. McAllister and J.R. Stauffer. 1980. **ATLAS OF NORTH OF AMERICAN FRESHWATER FISHERS.** North Car. St. Mus. of Nat. Hist. 854 p.
- Matsumura, F. 1985. **TOXICOLOGY OF INSECTICIDES.** 2ª Ed. Plenum Press, N.Y. 598p.
- Medway, W., J.E. Prier y J.S. Wilkinson. 1973. **PATOLOGIA CLINICA VETERINARIA.** U.T.E.H.A., México.
- Mishra, J. and A.K. Srivastava. 1983. **MALATHION INDUCED HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES IN THE INDIA CATFISH *Heteropneustes fossilis*.**  
Environmental Research. 30: 393-398 p.
- Murphy, D.S., R.R. Lauwerys and L. CH. Kenneth. 1968. **COMPARATIVE ANTICHOLINESTERASE ACCION OF ORGANOPHOSPHORUS INSECTICIDES IN VERTEBRATES.** Journal of Toxicology and Applied Pharmacology 12:22-35 p.
- O'brien, R.D. 1967. **INSECTICIDES, ACTION AND METABOLISM.** Department of Entomology. Academic Press, N.Y. and London. 332 p.
- O.M.S. 1984. **TEMEPHOS: APLICACION DEL LARVICIDA TEMEPHOS (ABATE) FORMULADO AL 1% EN GRANOS DE ARENA, PARA CONTROL DE *Aedes aegypti*.** OPS/O.M.S.-Unidad-ICF-UDC-010. Control de vectores. Panamá, Panamá.

- Plestina, R. 1986. **PREVENCION, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE INTOXICACIONES POR INSECTICIDAS.** ECO/OPS/OMS. 128 p.
- Post, G, 1987. **TEXT BOOK OF FISH HEALTH.** T.H.F. Publications, Inc. Ltd. 288 p.
- Quiroz, V.G. y L.G. Fournier. 1988. **SPSS ENFOQUE APLICADO.** McGraw Hill/Interamericana de México. México, D.F. 230 p.
- Srivastava, A.K. and J. Mishra. 1985. **LINDANE INDUCED HEMATOLOGICAL CHANGES IN THE CATFISH *Heteropneustes fossilis*.** National Academic Science Letters, India. 8 (12): 391-393 p.
- Steel, R.G.D. y J.H. Torrie. 1985. **BIOESTADISTICA: PRINCIPIOS Y PROCEDIMIENTOS.** 2ª Ed. McGraw Hill. Bogotá, Colombia. 622 p.
- Wedemeyer, G.A. and W.T. Yasutake. 1977. **CLINICAL METHODS FOR THE ASSESSMENT OF THE EFECTS ON ENVIROMENTAL STRESS ON FISH HEALTH.** Technical Paper of the U.S. Fish and Wildlife Service 89: 18 p.
- Wydosky, R.S. and G.A. Wedemeyer. 1976. **PROBLEMS IN THE FISIOLOGICAL MONITORING OF WILD FISH POPULATIONS.** Proc. Ann. Conf. West Asocc. Game & Fish Com. 56:200-214 p.

## A N E X O S :

**ANEXO 1. COMPARACION DE LA SUSCEPTIBILIDAD  
DEL BAGRE DE CANAL A DIFERENTES  
INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS (LC<sub>50</sub>-  
96 HRS) EN ppm. (Tomado de Browun, 1978)**

METILPARATION	5.7
FENTION	1.7
MALATION	9.0
AZINPHOSMETIL	3.3

**ANEXO 2. GRADOS DE TOXICIDAD DE INSECTICIDAS  
ORGANOFÓSFORADOS EN PECES LC<sub>50</sub> EN ppb.  
(Tomado de Browun, 1978)**

COMPUESTO	TRUCHA CAFE (48 hr)	LOBINA RAYADA (96 hr)
TEMEPHOS	1500	1000
MALATION	14	196
METILPARATION	17.8	47
FENTION	453	930

<b>ANEXO 3. Comparacion de medias hematológicas entre concentraciones.</b>			
	<b>Hemoglobina</b>	<b>Mcto</b>	<b>P.T.</b>
<b>Control</b>	9.1154 (0.4756)	35.4231 (2.3862)	6.3845 (1.5252)
<b>10 ppm</b>	5.7667 (0.4498)	31.4000 (2.1270)	3.8900 (0.7854)
<b>20 ppm</b>	4.9853 (0.4998)	27.9706 (2.2359)	3.1645 (0.4104)
<b>30 ppm</b>	4.9118 (0.4682)	25.0294 (1.6234)	2.1729 (0.3627)

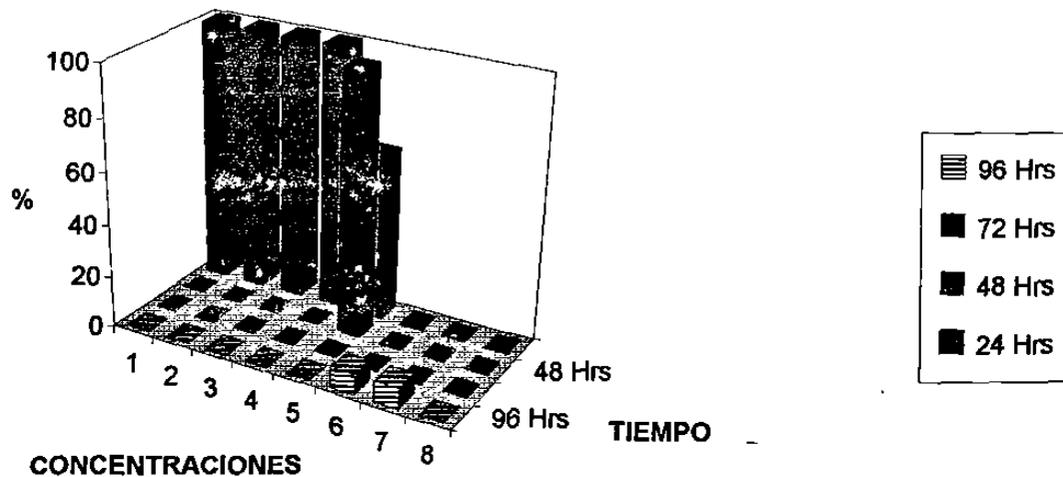
<b>ANEXO 4. TRATAMIENTOS CON DIFERENCIA SIGNIFICATIVA POR RANGOS MULTIPLES DE TUKEY.</b>													
		<b>Hemoglobina</b>				<b>Microhematocrito</b>				<b>Proteína Total Plasma</b>			
		<b>C</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>C</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>C</b>	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>
<b>C O N C</b>	<b>C</b>	---	*	*	*	----	*	*	*	----	*	*	*
	<b>10</b>	*	----	*	*	*	----	*	*	*	----	*	*
	<b>20</b>	*	*	----		*	*	----	*	*	*	----	*
	<b>30</b>	*	*		----	*	*	*	----	*	*	*	----

\* Diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre medias

ANEXO 5. Comparación de medias del Recuento Diferencial .				
	Control	10 ppm	20 ppm	30 ppm
<b>Trombocito *</b>	50.9000	65.0000	75.8667	79.8947
<b>Neutrófilo *</b>	00.6000	01.3571	10.5333	10.7368
<b>Monocito</b>	00.2000	00.1429	00.6670	00.1053
<b>Linfocito *</b>	42.8000	15.2114	14.4667	08.1579
<b>Basófilo</b>	00.0000	00.0000	00.0000	00.1053
<b>Eosinófilo</b>	00.1000	00.0000	00.0000	00.1579

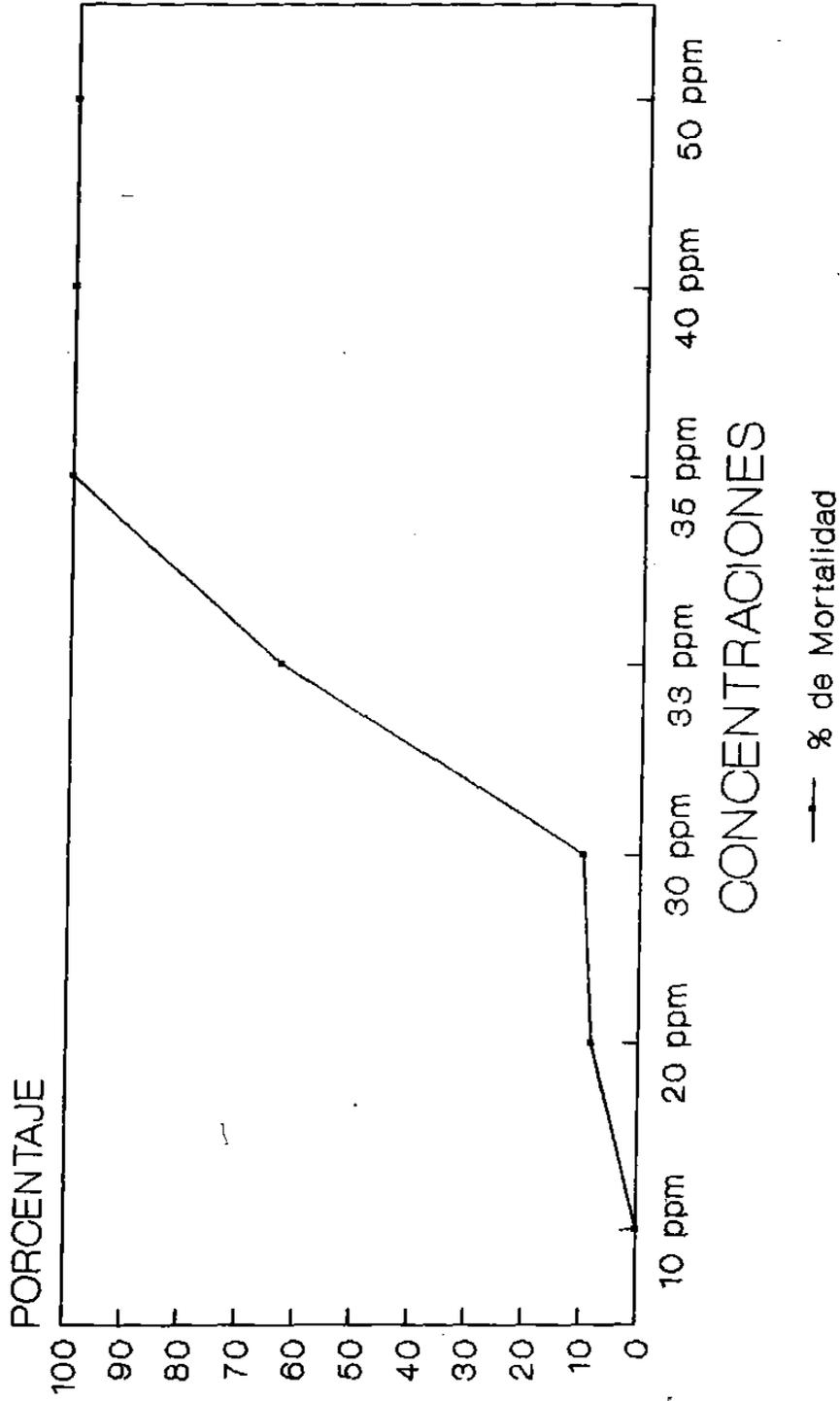
\* = Diferencia Significativa (P < 0.05) entre tratamientos.

### PORCENTAJE DE MORTALIDAD



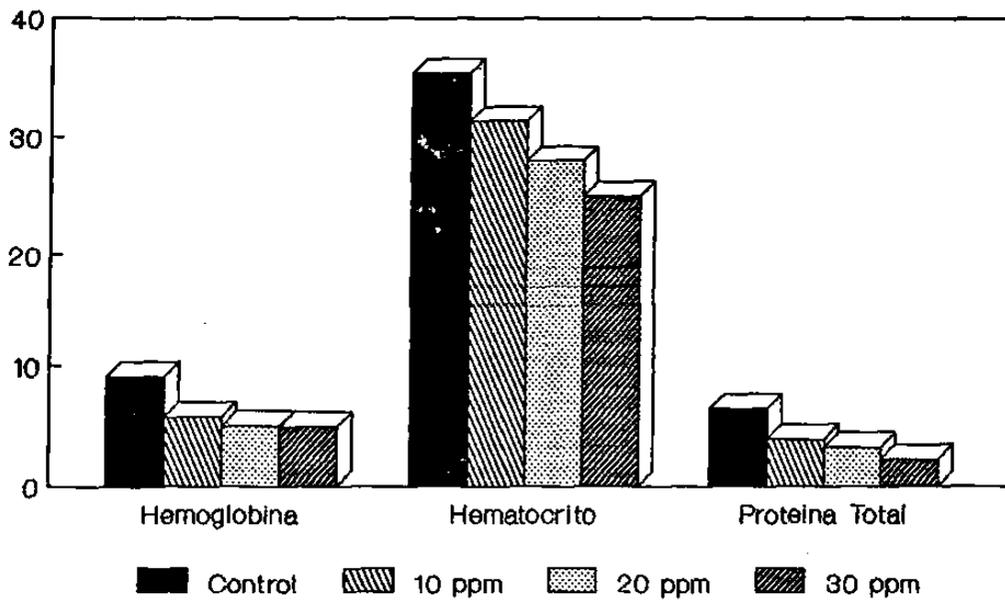
GRAFICA 1

# MORTALIDAD DE *Ictalurus punctatus* EXPUESTO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE ABATE (TEMEPHOS)



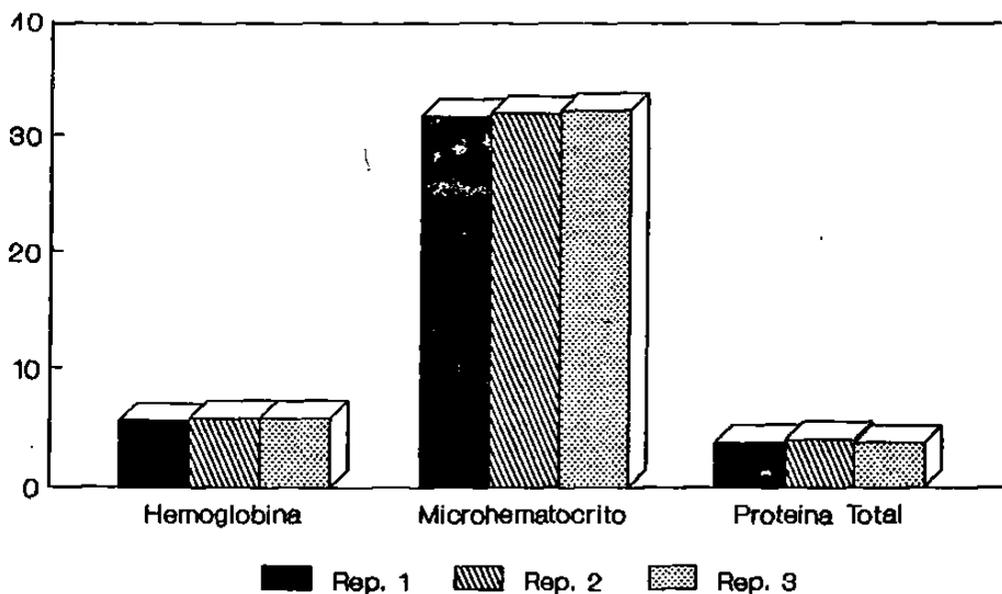
**GRAFICA 2**

## MEDIAS HEMATOLÓGICAS de *Ictalurus punctatus* tratados con abate (Temephos)



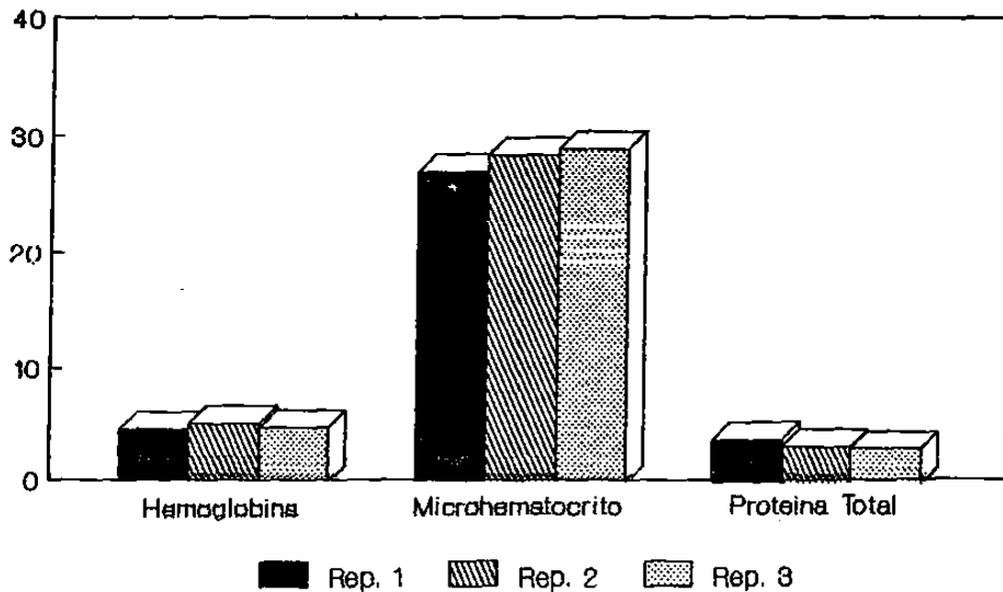
**GRAFICA 3**

## MEDIAS HEMATOLÓGICAS DE 10 ppm. de *Ictalurus punctatus* tratado con Abate (Temephos)



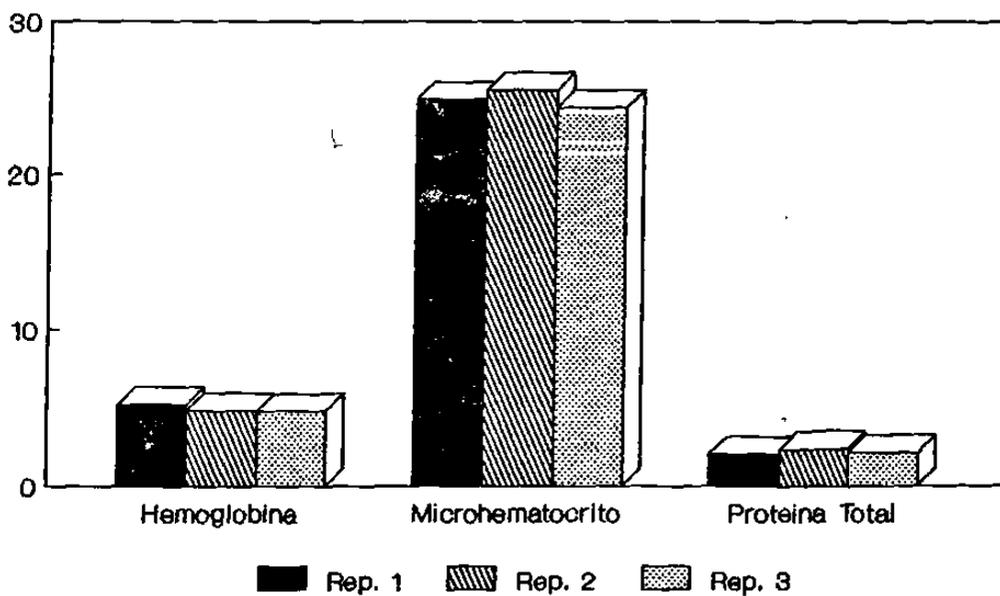
**GRAFICA 4**

**MEDIAS HEMATOLOGICAS DE 20 ppm.  
de *Ictalurus punctatus*  
tratado con Abate (Temephos)**



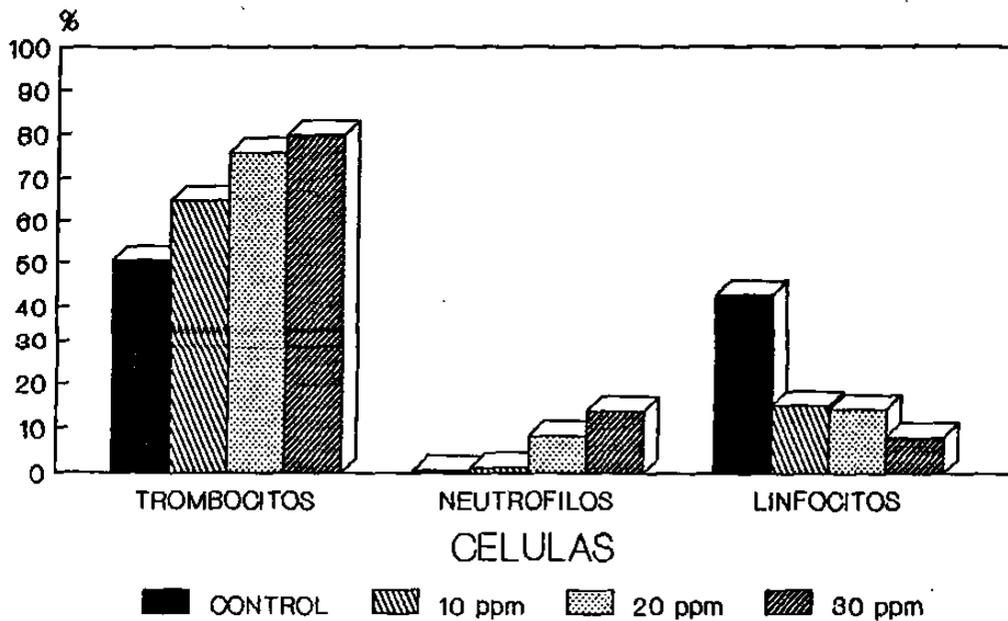
**GRAFICA 5**

**MEDIAS HEMATOLOGICAS DE 30 ppm.  
de *Ictalurus punctatus*  
tratado con Abate (Temephos)**



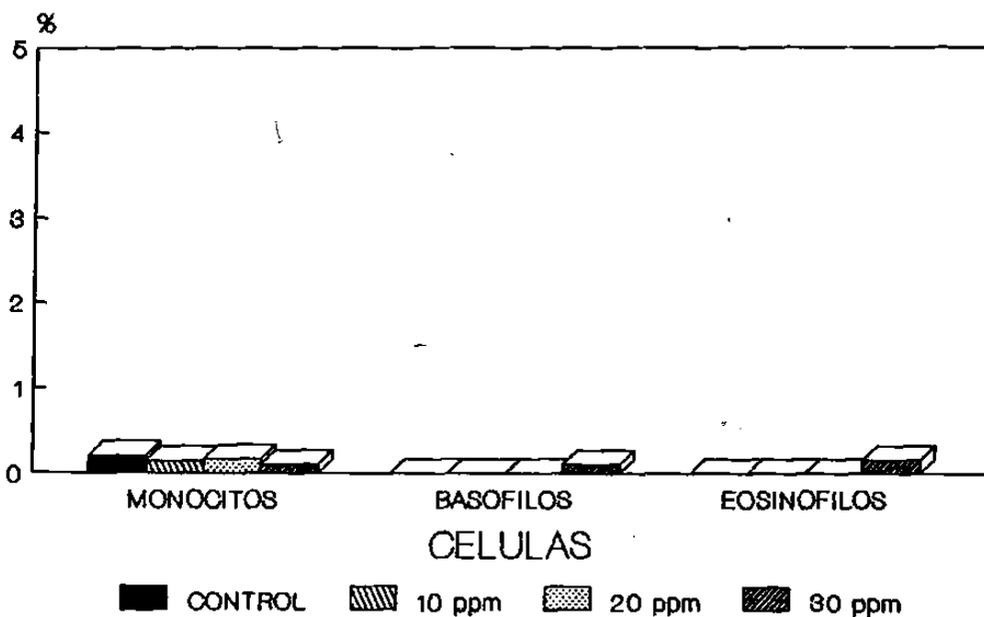
**GRAFICA 6**

**MEDIAS DEL RECUENTO DIFERENCIAL  
DEL BAGRE DE CANAL *Ictalurus punctatus*  
con diferencia significativa ( $P < 0.05$ )**



**GRAFICA 7**

**MEDIAS DEL RECUENTO DIFERENCIAL  
DEL BAGRE DE CANAL *Ictalurus punctatus*  
sin diferencia significativa ( $P < 0.05$ )**



**GRAFICA 8**

