

ESCUELA AGRICOLA PANAMERICANA  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

**EFECTO AGUDO DE TILT (propiconazole) Y CALIXIN  
(tridemorph) EN EL CAMARON BLANCO  
(Pennaeus vannamei)**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero  
Agrónomo en el grado académico de licenciatura

300661

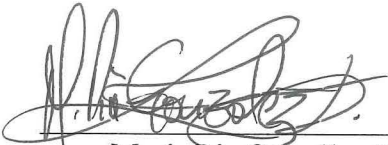
Por

**María Pía González Delgado**

**300661**

Honduras, 26 de abril de 1997

El autor concede a la Escuela Agrícola Panamericana permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.



---

María Pía González D.

Honduras, 26 de abril de 1997

## DEDICATORIA

A mis Padres, por el apoyo, cariño que siempre me brindaron y por los valores que me inculcaron.

A Raquel Jean y Sara Duran por estar siempre dispuestas a escucharme y por los buenos y malos momentos compartidos.

A mis hermanos Ma. Isabel, Jorge Emilio y Paola por comprender mi ausencia y no estar junto a ustedes cuando me necesitaron. Hermanos, el cielo es el limite.

A Mon petit niece Isabelle, Je t'aime a tout jamais.

A mi primo Carlos Cedeño (QEPD), por su ejemplo de fortaleza, carácter y superación.

A mis amigos, Alcides Jaramillo, Sandra Panting, Santiago Luzuriaga, Inti Jaramillo, Rodolfo Benitez, Javier Fernández, Otto Escobar, Carlos Palala, Simon Duran, Reynaldo Rodríguez, Oswaldo España, Boris España, Alvaro Gómez, Fernando Salazar, a ellos y a los muchos amigos del PIA que me alentaron este año, por su compañerismo y cariño. En especial a Rolando Haches por su amistad y desinteresada ayuda en la elaboración de este documento.

A Juan Diego Z. por su confianza, cariño y sueños compartidos. Labor omnia vincit.

## AGRADECIMIENTO

A Dios por iluminarme y darme fuerzas cuando lo necesite.

A mis Padres, por creer en mí, por contar con ustedes y por su herencia: la mejor educación.

A mi asesor principal Dr. Daniel Meyer, por sus consejos, asesoramiento y apoyo en la realización de este estudio, y por la amistad brindada. A mis asesores secundarios, MSc. Mario Bustamante, MSc. Carlos Aceituno, y PhD. Nancy Erickson por sus valiosos consejos y ayuda brindada.

Al Dr. Abel Gernat por sus consejos, amistad y confianza. Al Dr. Mario Matamoros por su amistad e invaluable aporte a mi formación profesional y personal.

Al Ing. Ruy Aguilar por su colaboración, Camaronera Regree, Ecuador.

A la Ing. Ann Van Hanevert, del Proyecto Biomonitorio de CENAIM, Ecuador, por su dedicación y desinteresada ayuda. Al MSc. Fernando Arcos, CENAIM, Ecuador, por su tiempo y bibliografía compartida.

A M.Sc. Lorena Schwarz, por su amistad, tiempo y dedicación, sin tu ayuda no lo hubiera logrado.

A Granjas Marinas San Bernardo y Larvicultura Cedeno, por su apoyo y donación de las larvas utilizadas en este estudio. A DOLE, Ceiba, por los productos químicos donados.

A mis amigas del PA, Gisela, Pamela, Paulina, Catalina, Ana Estela, Indiana, Ingrid y Ma. Augusta por su apoyo e incondicional amistad. A Carla García por sus consejos.

A la Familia Rojas, por su cariño, apoyo, consejos y por aceptarme en su hogar.

A la Familia Hernandez por ser mi 2do. Hogar.

A C. por la alegría de los momentos compartidos y por estar conmigo cuando más lo necesite. Gracias por todo.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto agudo o  $LC_{50}$  (72 hr) en P. vannamei de los fungicidas Tilt (propiconazole) y Calixin (tridemorph). Ellos son utilizados para combatir la Sigatoka negra en plantaciones bananeras y han sido involucrados en el denominado Síndrome de Taura, causante de mortalidades masivas en la producción camaronera. El modo de acción de ambos fungicidas es inhibir la síntesis de esteroides en los hongos. Se utilizaron Post-larvas 38-38, sembrados aleatoriamente 10 animales en 1.5 lt de agua. Fueron expuestos separadamente a concentraciones de 0.01, 0.10, 1.00 y 10.00 ppm de Tilt y a 0.40, 0.80, 1.50 y 3.00 ppm de Calixin. Las condiciones del experimento fueron: 23.7 °C temperatura del agua, mínimo de 6 ppm de oxígeno disuelto, 17,000 ppm de salinidad y un pH de 6. Las pruebas fueron bioensayos con agua estática. Se tomaron lecturas cada 12 horas de los parámetros de calidad de agua así como de la sobrevivencia de los animales. La sobrevivencia del control fue de 90% a las 72 hr. Bajo estas condiciones la  $LC_{50}$  para Tilt fue calculada en 0.013 ppm ( $p < 0.05$ ) y para Calixin fue de 0.350 ppm ( $p < 0.05$ ). Tilt fue más tóxico que Calixin, pero ambos son menos tóxicos que muchos insecticidas. La razón es porque los insecticidas han sido desarrollados para matar insectos, los cuales son también artrópodos al igual que el camarón, mientras que los fungicidas controlan organismos taxonómicamente muy alejados de ellos. Los parámetros de calidad de agua como temperatura, pH, salinidad, dureza, así como estadio de crecimiento del camarón, concentraciones utilizadas y tiempo de exposición, afectan los resultados en pruebas de toxicidad de ambos fungicidas para los camarones. Las  $LC_{50}$  del presente estudio fueron determinadas mediante un análisis PROBIT de la Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU.



## CONTENIDO

	Página
Portadilla.....	i
Derechos de autor .....	ii
Página de firmas .....	iii
Dedicatoria .....	iv
Agradecimiento .....	v
Resumen .....	vi
Contenido .....	vii
Índice de cuadros .....	viii
Índice de figuras .....	ix
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	3
2.1 VARIABLES QUE MODIFICAN LA TOXICIDAD.....	5
2.1.1. Especie .....	5
2.1.2. Estadios de vida.....	6
2.1.3. Temperatura.....	6
2.1.4. Dureza del agua .....	6
2.1.5. Salinidad.....	6
2.1.6. Materia Orgánica.....	6
2.2 PROPIEDADES DE LOS FUNGICIDAS.....	7
2.2.1 Propiedades de Tilt.....	7
2.2.1.1 Disipación en el agua .....	7
2.2.1.2 Estabilidad hidrolítica y fotolítica... ..	7
2.2.2 Propiedades de Calixin.....	7
2.2.2.1. Degradación en el suelo... ..	7
2.2.2.2. Degradación en el agua.....	7
2.2.2.3. Degradación en el aire .....	7
III. MATERIALES Y METODOS.....	8
3.1. UBICACIÓN.....	8
3.2. ANIMALES .....	8
3.3. AGUA .....	8
3.4. PRODUCTOS QUÍMICOS .....	9
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	11

V.	CONCLUSIONES.....	17
VI.	RECOMENDACIONES .....	18
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	19

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Parámetros de diferentes estudios realizados para estimar la $LC_{50}$ en el camarón blanco .....	3
2. Resumen de la $LC_{50}$ em ppm de varios insecticidas en algunas especies .....	4
3. $LC_{50}$ de Tilt en varias especies .....	5
4. Concentraciones evaluadas de Tilt y Calixin en el presente estudio .....	10
5. Variación en los parámetros de calidad de agua observados durante las pruebas (72 hr) .....	11
6. Mortalidad observada en los tratamientos con Tilt .....	12
7. Mortalidad observada en los tratamientos con Calixin .....	14
8. $LC_{10}$ , $LC_{50}$ y $LC_{99}$ (72 hr) de Tilt y Calixin .....	16



## INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Porcentaje de mortalidad de <u>P. vannamei</u> a diferentes concentraciones de Tilt .....	13
2. Porcentaje de mortalidad de <u>P. vannamei</u> a diferentes concentraciones de Calixin .....	15

## I. INTRODUCCION

El uso de plaguicidas causa amplios problemas ambientales y son los únicos tóxicos deliberadamente introducidos en el ambiente (Dinham 1993). Ellos contaminan los cuerpos de agua, contribuyen a la degradación del suelo, generan resistencia en insectos y contribuyen a la destrucción de la flora y fauna natural. El uso de plaguicidas agrícolas puede presentar un riesgo en los sistemas acuáticos y por ende a la producción acuícola.

Varios estudios revelan la presencia de plaguicidas en los esteros, ríos y otras fuentes de agua, en áreas cercanas a una explotación agrícola. En Belice se reporto contaminación de 7 fuentes de agua por plaguicidas provenientes de plantaciones de banano, caña de azúcar y cítricos (MacField et al. 1995). En Ecuador, se encontró residuos de Tilt y Calixin, en esteros que alimentaban a las piscinas camaroneras. Ambos productos son utilizados por la bananeras para combatir la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*). Los mismos han sido involucrados con el denominado "Síndrome de Taura", causante de mortalidades masivas en la producción camaronera.

Así mismo en Honduras se ha encontrado residuos de plaguicidas en el Río Choluteca (Meyer 1995). Este río es utilizado por las camaroneras para llenar los estanques y para el intercambio de agua. En la zona sur de Honduras no existen plantaciones bananeras comerciales.

En Centro América, el uso indiscriminado de plaguicidas es alarmante. Entre 1980 y 1989, se aplicó un promedio de 11.8 kg de pesticidas/ha cultivada, cantidad equivalente a 2.1 kg per cápita/año (Hance 1993).

Las pruebas de toxicidad tienen como objetivo principal establecer a que concentración una sustancia es letal para un organismo determinado (Sprague 1990). Estas pruebas también sirven para clasificar los químicos según su toxicidad (Landis & Ho - Yu 1995).

De los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad se obtiene recomendaciones sobre las concentraciones máximas aceptables para el bienestar del individuo y para evaluar la concentración que existe en el medio ambiente. Para lograr este objetivo se realizan dos tipos de ensayos de toxicidad: Agudos y Crónicos.

Un estudio crónico implica exponer el organismo a un extenso período de tiempo, generalmente 30 - 60 días y observar los efectos letales o subletales. Estos últimos incluyen cambios bioquímicos, fisiológicos, histológicos o en la conducta del organismos

expuesto al plaguicida (Sprague 1990), donde se espera que afecte el desarrollo normal de estos.

El presente estudio es de tipo agudo o concentración letal (LC), donde el tiempo de exposición al químico es relativamente corto y severo. El punto final es la muerte del individuo (La Point et al. 1989).

Este estudio fue de tipo estático, o sea que no hay reemplazo de agua ni del químico mientras dura la prueba. Tiene la ventaja de ser simple, de bajo costo y que no se necesita de equipo especial (Landis y Ho-Yo 1995; Sprague 1990). Este método se usa principalmente para pruebas de corta duración (LC<sub>50</sub>).

La razón principal por la cual se usan concentraciones constantes es la disponibilidad de técnicas estándar para analizar los resultados, además que todas las condiciones son mantenidas constantes (altos niveles de oxígeno, agua limpia; sin perturbación física), excepto la condición de interés: la concentración del tóxico (Sprague 1990; Rand 1995).

La estimación de la LC<sub>50</sub> difiere considerablemente de tiempo en tiempo y de lugar en lugar, aun bajo las mismas condiciones experimentales (Sprague 1990).

La prueba de LC<sub>50</sub> o de toxicidad aguda es la medida más usada en toxicología acuática para determinar la concentración que se estima que cause la muerte del 50% de la población (La Point et al. 1989; Sprague 1990). La LC<sub>50</sub> es la medida más precisa disponible para indicar el nivel de toxicidad del plaguicida y ubicar su lugar en la toxicología acuática.

El objetivo del presente estudio fue determinar bajo condiciones de agua estática el efecto agudo o LC<sub>50</sub> (72 hr) de los fungicidas Tilt (propiconazole) y Calixin (tridemorph) en el camarón blanco (Pennaeus vannamei) y específicamente comparar los resultados de este estudio con otras pruebas realizadas con la misma especie.

## II. REVISION DE LITERATURA

En varios estudios realizados con la Pennaeus vannamei se observó mucha variación en los resultados de determinación de LC<sub>50</sub> en ambos fungicidas. Como por ejemplo, la LC<sub>50</sub> (96 hr) a 2,000 ppm de salinidad para Tilt fue de 1.5 ppm y para Calixin fue menor de 1 ppm.

En cambio a 20.000 ppm de salinidad las LC<sub>50</sub> cambian a 2.30 para Tilt y 3.70 ppm para Calixin (cuadro 1) (Dibsa 1993). En otro estudio realizado por Daniels y Pavel (1993), la LC<sub>50</sub> (96 hr) para Tilt fue de 0.21 ppm y para Calixin estaba entre 0.002 y 0.005 ppm, a 2.000 ppm de salinidad (Cuadro 1).

Mientras que Enríquez (1996) estimó que la LC<sub>50</sub> (48 hr) para Tilt era  $0.50 \pm 0.02$  ppm y para Calixin  $1.59 \pm 0.04$  ppm, a 35.000 ppm de salinidad (Cuadro 1). En otro estudio realizado por Intriago et al. (1994) la LC<sub>50</sub> (24 hr) para Tilt fue de 1.527 ppm mientras que para Calixin fue de 1.544 ppm (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Parámetros de diferentes estudios realizados para estimar la LC<sub>50</sub> en P. vannamei.**

Estudio	LC <sub>50</sub> ppm		Condiciones			
	Tilt	Calixin	Salinidad ppm	Temperatura °C	Estadio	Duración horas
Daniels y Pavel (1993)	0.21	0.002-0.0005	2000	29-30	nd	96
Enríquez (1996)	0.50	1.59	35.000	28	0.004-0.25 g.	48
Dibsa (1993)	0.032	>0.020	20.000	25-27	PL 13	96
Intriago et al (1994)	1.527	1.544	10.000	22	PL10-11	24
EAP (1997)	0.013	0.35	17.000	24	PL36-38	72



Estos resultados demuestran la gran variabilidad que pueden obtenerse y el efecto que tienen variables como temperatura, salinidad, dureza del agua, oxígeno disuelto y la materia orgánica en la toxicidad de un plaguicida (Sprague 1989; Abel & Axiak 1991; Tiews 1976; Matsumura 1985).

Lightner et al. (1995), realizó estudios de toxicidad crónica, con Benlate (benomyl), otro fungicida utilizado para combatir la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* var. *difformis*). Se basó en las concentraciones menores de la  $LC_{50}$  (96 hr) de aproximadamente 10 ppm, reportado para Benlate.

De ahí la importancia de este tipo de estudio para poder realizar estudios crónicos posteriores que son los que causan graves problemas en el desarrollo del organismo. En ese estudio se analizó la morfología patológica que presentaban los camarones, lo cual no se puede evaluar en una prueba de toxicidad aguda. Según el fabricante de Tilt, (Ciba-Geigy), su toxicidad para crustáceos  $LC_{50}$  (96 hr) es de 0.500 ppm y que se disipan rápidamente siendo absorbidos por los sedimentos y por medio de degradación microbial. Pero se debe tener presente que los camarones Peneidos son omnívoros bénticos, o sea que se alimentan del detritus (materia orgánica en descomposición), microorganismos, protozoos, pequeños invertebrados y algas, así como de la dieta que le da el productor (Villalon 1991). Y es posible que debido a su naturaleza béntica y manera de alimentarse, el fungicida que fue absorbido por los sedimentos, sea consumido por el animal. Mientras que Calixin es degradado por los microorganismo.

En la literatura revisada no se encontró la  $LC_{50}$  de insecticidas para camarones, pero si existe para otras especies taxonómicamente relacionadas (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Resumen de la  $LC_{50}$  en ppm de varios insecticidas en algunas especies.**

	DDT	Dieldrin	Endrin	Abate	Dursban	Parathion	Carbaryl	Zectran
Trucha	0.007	<sup>a</sup> 0.04	0.0018	1.50	0.05	2	4.38	8
arociris								
Bluegill <sup>a</sup>	0.008	0.007	0.0005			0.047	6.76	<sup>b</sup> 11.2
Shrimp, sand <sup>a</sup>	0.003	0.06	0.0028			0.011		

<sup>a</sup> ( 24 - 48 hr de exposición )

<sup>b</sup> ( 96 hr de exposición )

-----  
Adaptado de Tucker & Crabtree (1970).

En general los insecticidas son más tóxicos que los dos fungicidas probados en este ensayo. Muchos insecticidas lipofílicos (por ejemplo DDT, endosulfan) tienden a bioacumularse en los organismos acuáticos (Matsumura 1985). Se esperaría que los insecticidas sean más tóxicos para camarones porque estos han sido desarrollados para matar los insectos, los cuales son también artrópodos mientras que los fungicidas sirven para controlar organismos taxonómicamente muy lejos de los crustáceos. Aunque el modo de acción de ambos fungicidas es inhibir la síntesis de esteroides en el hongo, se ha postulado que también podrían inhibir la síntesis de ecdisona, la hormona de muda en el camarón, la cual es también un esteroide (Intriago et al. 1994).

**Cuadro 3. LC<sub>50</sub> de Tilt en otras especies.**

Especie	Tiempo de exposición (hr)	LC <sub>50</sub> (ppm)
<u>Gammarus lacustris</u> (clase crustacea: orden Decapoda)	96	1.3 <sup>a</sup>
<u>Daphnia magna</u>	48	4.8 <sup>b</sup>
Trucha café	96	0.13-1.2 <sup>c</sup>
Carpa	nd	+ de 100

<sup>a</sup> Adaptado de Baekken y Aanes, 1989

<sup>b</sup> Ciba Geigy

<sup>c</sup> Abel y Axiak, 1992

## 2.1 VARIABLES QUE MODIFICAN LA TOXICIDAD

### 2.1.1. Especie.-

Existen grandes diferencias entre los invertebrados y otros grupos taxonómicos, pero no es posible especificar los grupos sensitivos o tolerantes, porque la tolerancia relativa, varía con la sustancia.



### 2.1.2. Estadios de vida.-

Tienen un profundo efecto en la vulnerabilidad a los tóxicos. Invertebrados son generalmente mas sensitivos cuando están mudando.

### 2.1.3. Temperatura.-

Es un factor abiotico que se espera tenga gran influencia en la toxicidad de un compuesto, especialmente en peces y otros poikilotermos.

### 2.1.4. Dureza del agua.-

Se refiere a la concentración de calcio y magnesio. Generalmente dureza, alcalinidad (concentraciones de carbonatos y otros aniones) y pH incrementan o decrecen juntos. En estudios llevados a cabo en Ecuador se ha encontrado que Tilt y Calixin son mas letales cuando la dureza del agua es baja.

### 2.1.5. Salinidad.-

Es un factor muy importante en la composición del agua. El incremento de salinidad aumenta los valores de  $LC_{50}$ , o sea disminuye la toxicidad de los fungicidas en el camaron blanco. En resultados obtenidos por CENAIM, en Ecuador, sugieren que la toxicidad de Tilt es aproximadamente igual a baja y alta salinidad.

### 2.1.6. Materia Orgánica.-

Tiende a unir o absorber contaminantes y destoxificarlos. (Sprague 1989; Abel y Axiak 1991; Fisheries Resources 1976).

## 2.2 PROPIEDADES DE LOS FUNGICIDAS

### 2.2.1 Propiedades de Tilt

2.2.1.1. Disipación en el Agua.- Estudios han presentado que la absorción y la degradación microbiana contribuyen a la disipación de propiconazole en el agua. Cuando llega a los cuerpos de agua es rápidamente absorbido por sedimentos. Dentro de los primeros 30 minutos hasta el 40% del ingrediente activo es eliminado del agua. La degradación microbiana es el factor más importante que contribuye a eliminar este producto del agua y de los sedimentos. Basándose en esa degradación microbiana, es de esperar que haya metabolitos, siendo estos iguales a los encontrados en el suelo, como triazoles libres (Ciba-Geigy 1993).

2.2.1.2 Estabilidad hidrolítica y fotolítica.- Hidrólisis no contribuye significativamente a la disipación de Tilt en el agua. Fotólisis ocurre en presencia de sensibilizadores, los cuales casi siempre existen bajo sistemas microbianos activos. Aunque no hay datos relevantes sobre este fenómeno.

### 2.2.2 Propiedades de Calixin.-

2.2.2.1 Degradación en el suelo.- Tridemorph se degrada vía microbiana. Se ha establecido en el campo, que el tiempo de vida media está entre 14-35 días, se degrada relativamente rápido y se le clasifica como medianamente estable. No se puede esperar una acumulación de este producto en el suelo. Esta degradación ocurre vía oxidación de nitrógeno.

2.2.2.2 Degradación en el agua.- A pesar que es hidrolíticamente estable, pruebas de degradación acuática de mezclas de agua y suelo indicaron un tiempo de vida media de aproximadamente 16 días. Esta degradación ocurre vía microorganismos.

2.2.2.3 Degradación en el aire.- Por los radicales OH, la degradación ocurre en un tiempo de vida menor a 3 horas. Esto significa que debido a la presión de vapor, la presencia del producto en el suelo o en el agua, es extremadamente reducida.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. UBICACIÓN.-

El presente estudio se llevo a cabo en el laboratorio de Biología de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), ubicada en el Valle del Llagare, a 36 Km. al este de Tegucigalpa, a una altura de 800 msnm, con una temperatura promedio anual 23 °C, Departamento de Francisco Morazan, Honduras.

#### 3.2. ANIMALES.-

En la pruebas se utilizaron Post-larvas (P-Ls) 36-38, de P. vannamei (Filo Arthropoda, Clase Crustacea, Orden Decapoda ), esto significa que los animales tenían entre 36-38 días de desarrollo después de haber realizado una metamorfosis ( de larva a post-larva ). A su llegada fueron puestos en tanques de fibra de vidrio en la sección de Acuicultura de la EAP. Fueron alimentados con Artemia salina por una semana para su aclimatación y evaluación de su condición física. Luego fueron alimentados con una dieta comercial para camaron con 40 % de proteína hasta que alcanzaron el tamaño necesario para iniciar las pruebas (P-Ls 36-38).

#### 3.3. AGUA.-

El agua de los medios fue transportada desde Larvicultura Cedeño, la misma que fue tratada, utilizando desgasificador, cuatro filtros de arena, filtro de 1 y 5 micras, rayos ultravioleta. Gradualmente se bajo la salinidad a 17.000 ppm utilizando agua filtrada de la sección.

Los pruebas se llevaron a cabo en 30 recipientes de vidrio con 4 lt de capacidad cada uno. Se sembraron aleatoriamente 10 animales en 1.5 lt de agua en cada recipiente.

Mientras duro cada prueba, no se alimentaron los camarones, ni se realizo intercambio de agua en los recipientes. Al inicio de cada prueba se saturo el agua con gas oxigeno de un tanque.

Se registro la temperatura ambiental, así como concentraciones de oxigeno disuelto, pH, y salinidad de los recipientes durante las pruebas. La concentración de oxigeno fue registrada utilizando un medidor marca YSI, modelo 57.

#### 3.4. PRODUCTOS QUÍMICOS.-

Los plaguicidas a evaluar fueron propiconazole, conocido comercialmente como Tilt (Ciba-Geigy, Basel, Suiza) y tridemorph marca comercial para Calixin, (BASF, Alemania). (Tilt y Calixin contienen 250 gr de i.a./ lt y 750 gr de i.a./ lt, respectivamente). Ambos productos fueron donados por DOLE, Compañía localizada en La Ceiba, Honduras..

Antes de iniciar las pruebas, todo el equipo fue lavado y desinfectado con una solución de ácido clorhídrico al 1N.

La solución madre, así como las diluciones a evaluar (Cuadro 4) se prepararon al momento de iniciar las pruebas. Se realizaron dos pruebas de toxicidad aguda, con 5 concentraciones diferentes de cada producto y 3 replicas para cada tratamiento. La primera prueba fue para reducir el rango de las concentraciones a usar en la prueba final o definitiva.

Se tomaron lecturas de la mortalidad cada 12 horas, extrayéndose los animales muertos de cada recipiente. El tiempo total de exposición a los plaguicidas fue de 72 horas.

La  $LC_{50}$  fue determinada mediante un análisis PROBIT versión 1.5 de la EPA (Environmental Protection Agency de EE.UU.)

**Cuadro 4. Concentraciones evaluadas de Tilt y Calixin en el presente estudio.**

<u>Tratamiento con TILT (Propiconazole)</u>		<u>Tratamiento con CALIXIN (Tridemorph)</u>	
<u>Tratamientos</u>	<u>Concentración (ppm)</u>	<u>Tratamientos</u>	<u>Concentración (ppm)</u>
T1	10.00	C1	3.00
T2	1.00	C2	1.50
T3	0.10	C3	0.80
T4	0.01	C4	0.40
T5	0.00 Control	C5	0.00 Control



### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. UBICACIÓN.-

El presente estudio se llevo a cabo en el laboratorio de Biología de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), ubicada en el Valle del Llagare, a 36 Km. al este de Tegucigalpa, a una altura de 800 msnm, con una temperatura promedio anual 23 °C, Departamento de Francisco Morazan, Honduras.

#### 3.2. ANIMALES.-

En la pruebas se utilizaron Post-larvas (P-Ls) 36-38, de P. vannamei (Filo Arthropoda, Clase Crustacea, Orden Decapoda ), esto significa que los animales tenían entre 36-38 días de desarrollo después de haber realizado una metamorfosis ( de larva a post-larva ). A su llegada fueron puestos en tanques de fibra de vidrio en la sección de Acuicultura de la EAP. Fueron alimentados con Artemia salina por una semana para su aclimatación y evaluación de su condición física. Luego fueron alimentados con una dieta comercial para camaron con 40 % de proteína hasta que alcanzaron el tamaño necesario para iniciar las pruebas (P-Ls 36-38).

#### 3.3. AGUA.-

El agua de los medios fue transportada desde Larvicultura Cedeño, la misma que fue tratada, utilizando desgasificador, cuatro filtros de arena, filtro de 1 y 5 micras, rayos ultravioleta. Gradualmente se bajo la salinidad a 17.000 ppm utilizando agua filtrada de la sección.

Los pruebas se llevaron a cabo en 30 recipientes de vidrio con 4 lt de capacidad cada uno. Se sembraron aleatoriamente 10 animales en 1.5 lt de agua en cada recipiente.



De los resultados del presente estudio, se calculó la  $LC_{50}$  (72 horas de exposición) para Tilt (propiconazole) en 0.013 ppm ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 6; Figura 1) y para Calixin (tridemorph) en 0.350 ppm ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 7; Figura 2) en las pruebas con P. vannamei (P-Ls 36-38) a 24 ° C y a 17,000 ppm de salinidad. Los resultados del presente estudio indican que la toxicidad de Tilt es mayor que Calixin para esta especie. Enríquez (1996) presentó una  $LC_{50}$  para Tilt de 0.50 ppm y para Calixin de 1.59 ppm para P. vannamei.

**Cuadro 6. Porcentaje de mortalidad (72 hr) observada en P-Ls 36-38 de P. vannamei expuestos a diferentes concentraciones de Tilt, en una población de 30 animales (10 animales en 1.5 lt de agua a 17,000 ppm de salinidad) (Honduras 1997).**

horas	Concentración de Tilt (ppm)					
	(control)	0.00	0.01	0.10	1.00	10.00
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	0.00	0.00	3.33	16.67	100.00	100.00
24	0.00	0.00	3.33	20.00	100.00	100.00
36	0.00	0.00	3.33	36.67	100.00	100.00
48	3.33	33.33	36.67	50.00	100.00	100.00
60	3.33	46.67	53.33	100.00	100.00	100.00
72	10.00	53.33	60.00	100.00	100.00	100.00

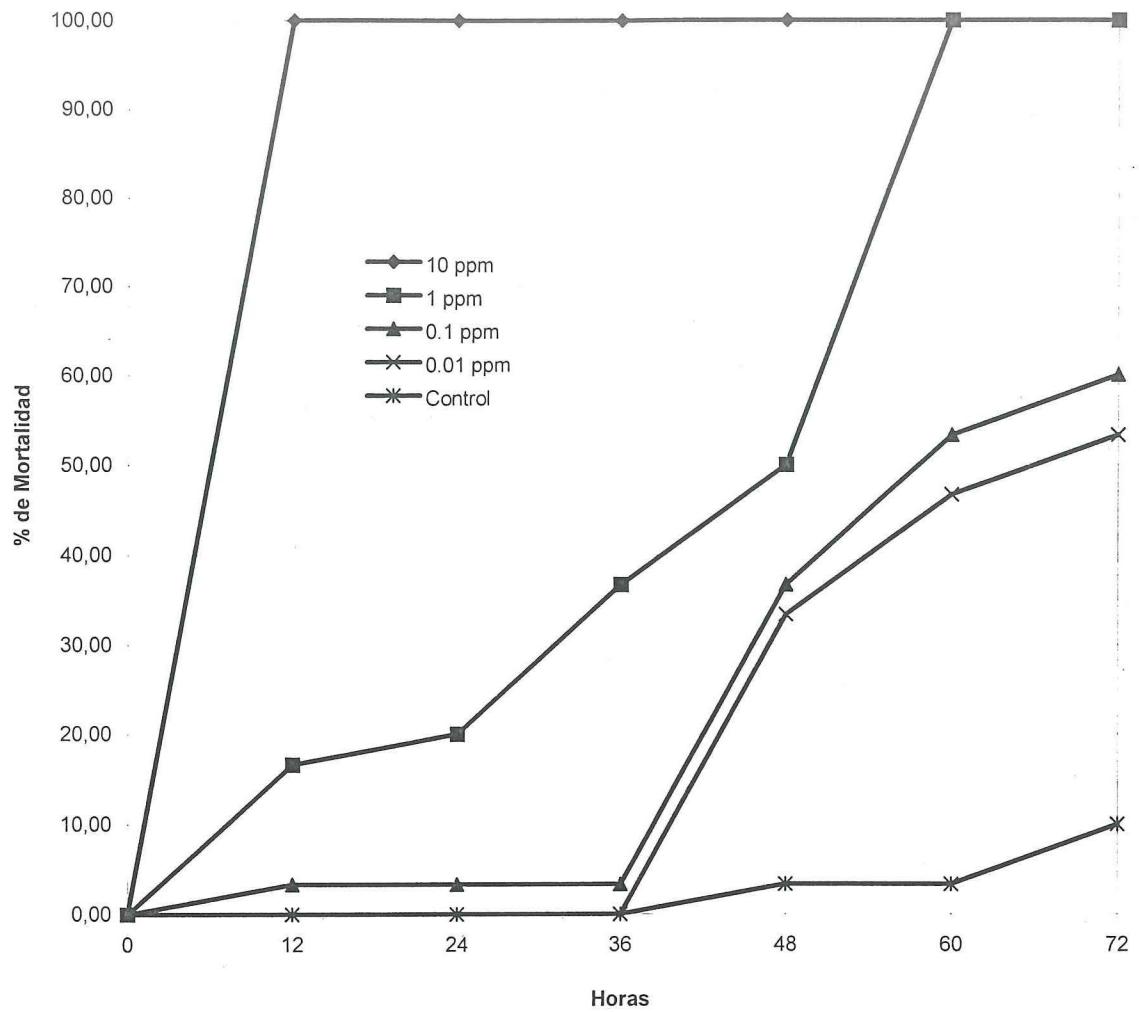


Figura 1. Mortalidad (%) observada en P-Ls 36-38 de P vannamei expuestas a diferentes concentraciones de Tilt en una prueba de  $LC_{50}$  (72 hr) (EAP, Honduras 1997).

**Cuadro 7. Porcentaje de mortalidad (72 hr) observada en P-Ls 36-38 de P. vannamei expuestos a diferentes concentraciones de Calixin, en una población de 30 animales (10 animales en 1.5 lt de agua a 17,000 ppm de salinidad) (Honduras 1997).**

<u>horas</u>	<u>Concentraciones de Calixin (ppm)</u>					
	<u>(control)</u>	<u>0.00</u>	<u>0.4</u>	<u>0.8</u>	<u>1.5</u>	<u>3.0</u>
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	23.33
24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	23.33
36	0.00	0.00	0.00	30.00	40.00	
48	3.33	30.00	30.00	60.00	66.67	
60	3.33	50.00	53.33	86.67	93.33	
72	10.00	56.67	76.67	86.67	93.33	

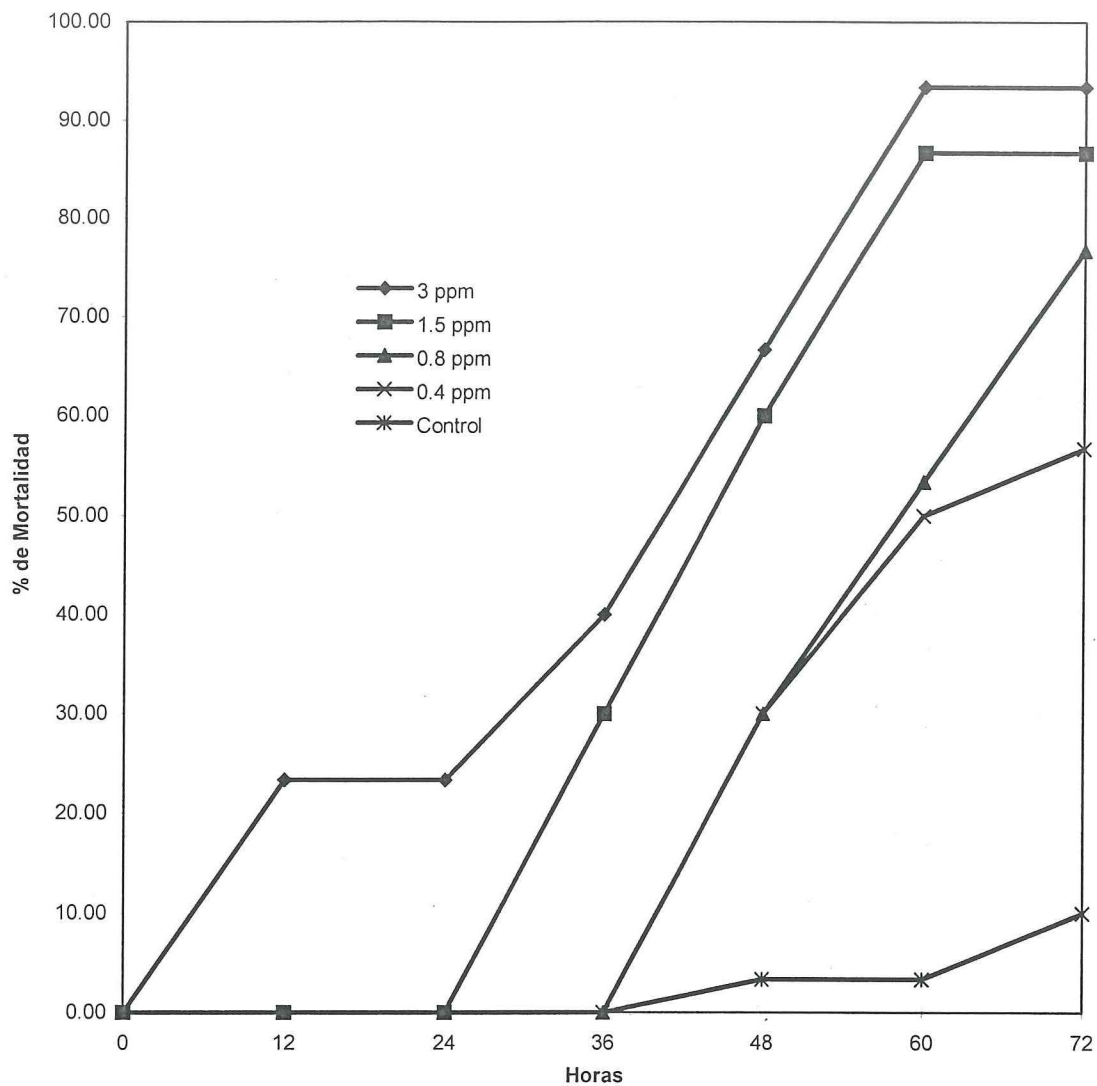


Figura 2. Mortalidad (%) observada en P-Ls 36-38 de *P vannamei* expuestas a diferentes concentraciones de Calixin en una prueba de  $LC_{50}$  (72 hr) (EAP, Honduras 1997).

La toxicidad de Calixin se acercó a la de Tilt a medida que aumentaban los estimados de  $LC_{10}$ ,  $LC_{50}$  y  $LC_{99}$  (Cuadro 8), siendo Tilt siempre mas tóxico que Calixin bajo las condiciones de este estudio.

**Cuadro 8.  $LC_{10}$ ,  $LC_{50}$  y  $LC_{99}$  (72 hr) de Tilt y Calixin.**

	<u>Tilt</u>	<u>Calixin</u>	<u>Proporcion Calixin/Tilt</u>
$LC_{10}$	0.001	0.057	50 x
$LC_{50}$	0.013	0.351	27 x
$LC_{99}$	4.400	9.535	2 x

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Durante el tiempo que duró las pruebas, no hubo variación importante en la calidad del agua (Cuadro 5). La temperatura del agua estaba dentro del rango óptimo para la especie. No se observó variación en el pH, esto se debe a que las aguas saladas contienen iones que ayudan a amortiguar el pH (Abel y Axiak 1991; Sprague 1990). Hubo una pequeña variación en la concentración de oxígeno disuelto en el agua pero siempre estaba dentro de los límites para el camarón. No se detectaron cambios en la salinidad del agua durante la realización de las pruebas.

**Cuadro 5. Variación en los parámetros de la calidad de agua observados durante las pruebas (72 hr) con Tilt y Calixin en *P. vannamei*.**

<u>Parámetros</u>	<u>Promedio</u>	<u>Rango variación</u>
Temperatura Promedio	23.7 ° C	± 1.2
Oxigeno Disuelto	6 ppm	± 1.4
Salinidad	17.000 ppm	estable
pH	6.5	estable

La sobrevivencia de las P-Ls del control en ambas pruebas fue de 90% a las 72 hr (Cuadro 6 y 7; Figuras 1 y 2). Al comienzo de cada prueba (0-12 hr) se encontraron restos de muda en todos los recipientes, indicando el buen estado en que se encontraban los camarones a lo largo de las pruebas. Se encontró camarones pegados a las paredes de los recipientes en todas las concentraciones probadas. No se observó en los controles animales pegados a las paredes de los recipientes. Posiblemente la exposición a los fungicidas tiene efecto sobre el comportamiento del animal, ya que ellos presentaron un nado errático y letargo. Lightner et al. (1995) en estudios crónicos que realizó en la misma especie con Benlate (Benomyl), reportó un comportamiento letárgico y anorético. No se pudo detectar lesiones cuticulares ni cambios en el color de la musculatura de las P-Ls, los cuales si son detectables en estudios crónicos (Lightner et al. 1995).



## V. CONCLUSIONES

1. La sobrevivencia a 72 horas observada en las P-Ls testigos ( 0.00 ppm de plaguicida) fue de 90 %.
2. Al comenzar las pruebas hubo presencia de muda en todas las concentraciones evaluadas, incluyendo los testigos.
3. Se determinó la  $LC_{50}$  a 72 hr para Tilt en 0.013 ppm para P. vannamei
4. Se determinó la  $LC_{50}$  a 72 hr para Calixin en 0.35 ppm para P. vannamei.
5. Tilt fue mas tóxico que Calixin bajo las condiciones de este estudio.
6. Los animales expuestos a las concentraciones de los dos fungicidas mostraron un nado errático y letárgico.
7. Se encontraron algunos camarones pegados a la pared del recipiente en los grupos tratados. Ningún camarón de los grupos testigos fue encontrado pegado al vidrio.
8. Las  $LC_{50}$  reportadas aquí para Tilt y Calixin varían de las determinaciones de otros investigadores.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios para evaluar los efectos de ambos plaguicidas a diferentes salinidades, durezas y temperaturas del agua.
2. Determinar la  $LC_{50}$  para Tilt y Calixin con el camarón blanco en sus diferentes estadios de crecimiento.
3. Determinar el efecto agudo de estos fungicidas en otras especies acuáticas de importancia económica.
4. Calcular la  $LC_{50}$  de otros plaguicidas que han sido encontrados como contaminantes en algunas fuentes de agua en el sur de Honduras, donde se concentra la actividad camaronera en el país y otras actividades de agricultura intensiva.
5. Elaborar estudios crónicos para determinar el efecto de ambos productos sobre el desarrollo de P. vannamei y poder cuantificar una posible bioacumulación en sus tejidos.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- ABEL, P.D.; AXIAK, V., 1991. Ecotoxicology and the marine environment. England, Ellis Horwood Limited.
- CRUZ DE PERON, D. 1994. Dialogo sobre políticas de desarrollo sostenible para el caso del síndrome de Taura, Larvicultura en el Ecuador, Ecuador, no. 10: 19-22.
- DANIELS, H.; PAVEL, D. 1993. Tass acute toxicity test: outline of results. 2 pag.
- DIBSA. 1993. LC<sub>50</sub>0 de Tilt y Calixin para larvas de camarón en 20 ppt de salinidad, Ecuador. 1 pag.
- DINHAM, B. 1993. The pesticide hazard. A global health and enviromental audit. Biddles Ltd, Guildford & King's Lynn, Reino Unido.
- ENRIQUEZ, M. H. 1996. Estudio de la etiologia del sindrome de taura, Departamento de calidad de agua, CENAIM, Larvicultura en el Ecuador, no. 10: 10-18.
- HANCE, R. J. 1993. Agroecological effects resulting from the use of persistent pesticides in Central America. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 2 pag.
- HESSEN, D.O.; Kallquist, T.; Abbel-Hamid, I. M.; Borge, D. 1994. Effects of pesticides on different zooplankton taxa in mesocosm experiments. Norwegian Institute for Water Research. Norwegian Journal of Agricultural Sciences, suplemento no. 13: 153 - 161.
- INTRIAGO, P.; JIMENEZ, R.; MACHUCA, M.; BARNIOL, R.; KRAUSS, E.; SALVADOR, X. 1996. Experimental & biochemical evidences supporting the toxic nature of the Taura syndrome in *P. vannamei*. Ecuador.
- KALLQUIST, T.; ABDEL-HAMID, I.M.; BERGE, D. 1994. Effects of agricultural pesticides on freshwater plankton communities in enclosures. Norwegian Institute for Water Research. Norwegian Journal of Agricultural Sciences, suplemento no. 13: 133 - 152.

- KALLQUIST, T.; ROMSTAD, R. 1994. Effects of agricultural pesticides on planktonic algae and cyanobacteria: Examples of interspecies sensitivity variations. Norwegian Institute for water research. Norwegian Journal of Agricultural Sciences, suplemento no. 13: 117 - 131.
- LA POINT, T.W.; FAIRCHILD, J.F.; LITTLE, E.E.; FINGER, S.E. 1989. Laboratory and field techniques in ecotoxicological research: strengths and limitations. In Aquatic ecotoxicology: fundamental concepts and methodologies. Ed. by A. Boudou, F. Ribeyre, Florida, U.S.A. CRC Press, Inc. vol.II.
- LANDIS, G.W.; HO - YO, M. 1995. Introduction to environmental toxicology: impact of chemical upon ecological systems. U.S.A., Lewis publisher, imprint of CRC Press Inc..
- LIGHTNER, D.V.; HASSON, K.W.; WHITE, B.L.; REDMAN, R.M. 1995. Chronic toxicity and histopathological studies with Benlate, a commercial grade of benomyl in *P. vannamei*, Aquatic toxicology, Vol 34, no 1, pp 87-93. The Netherlands.
- MEYER, D. 1995. Determination of pesticide levels in estuaries in southern Honduras, Escuela Agricola Panamericana, Honduras.
- RAND, M.G. 1995. Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate & risk assessment. 2da. Edición. Washington, U.S.A., Taylor & Francis.
- SPRAGUE, B.J. 1990. Aquatic toxicology. In Methods for fish biology. Ed. by C.B. Schreck, P.B. Moyle, American fisheries society, U.S.A. p. 491 - 52
- STATE OF the coastal zone report. 1996. Coastal zone management program, Government of Belize, Ed. by Mcfield M., Wells, S. & Gibson, J. Belize.
- TIEWS, K. 1976. Fisheries resources and their management in Southeast Asia. Druckerei Heinz Lammerich, Bonn. Alemania.
- VILLALON, J. R. 1994. Manual práctico para la producción comercial semintensiva de camarón marino. Texas A & M University, Sea Grant Program, USA.

300661