

## Toxicidad de malatión en gónada y alevines de *Poecilia reticulata* hembra

Lopez Duran Abigail, Sanchez Pastrana Brandon Levicarim, Chirino Galindo Gladys, Palomar Morales Martín\*

UNAM. Departamento de Biología, FES Iztacala; Avenida de los Barrios no. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, C.P. 54090, Estado de Mexico, Mexico.

\* Autor para correspondencia: palomarmoralesmartin@gmail.com

### Recibido:

04/agosto/2019

### Aceptado:

05/noviembre/2019

### Palabras clave:

*Poecilia reticulata*,  
malatión, daño gonadal

### Keywords:

*Poecilia reticulata*,  
malathion, gonadal  
damage

### RESUMEN

El malatión es un pesticida muy tóxico, se sabe que daña diferentes órganos y procesos biológicos de los organismos acuáticos; particularmente puede causar daño hepático, cardíaco y reproductivo. El propósito de éste trabajo fue demostrar que la aplicación de malatión a hembras de *Poecilia reticulata* afecta la histología normal de gónada y alevines, para lo cual el malatión fue aplicado en las peceras con hembras de *P. reticulata*, y se evaluó la mortalidad diaria durante los primeros cuatro días. Al término del estudio, de los organismos se obtuvieron los ovarios, que se sometieron a histología de rutina, y los cortes histológicos fueron observados al microscopio. Se encontró daño profundo en la histología del ovario, la infraestructura folicular y celular en general. En conclusión, la letalidad por malatión muestra un efecto dosis-respuesta, y se demostró que el pesticida causa alteraciones profundas de la histología del ovario.

### ABSTRACT

Malathion is a very toxic pesticide, it is known that affect different organs and biological processes of mainly aquatic organisms; particularly, malathion can cause hepatic, cardiac and reproductive injury. The purpose of this work was to demonstrate that the application of malathion to females of *Poecilia reticulata* affects the normal histology of ovaries and alevins. Malathion was applied at low concentrations to fish tanks containing females of *P. reticulata*, and daily mortality was assessed during the first four days; the ovaries were obtained from the organism, and subjected to routine histology and the histological sections were observed under a microscope. It was found a profound damage in ovary histology, follicle and cellular ultrastructure. In conclusion, a dose-response effect of malathion in terms of lethality was determined, and it was shown that the pesticide to cause profound changes in the histology of the ovary.

## Introducción

La contaminación se define como: la administración, adherencia, aplicación o emisión de compuestos y microorganismos que interactúan en el medio como un factor de acción negativa para la diversidad biológica (Atland y Bjercknes, 2009). Los contaminantes pueden ser de tres tipos: biológicos, físicos y químicos. Estos últimos se encuentran dependiendo de su estado de agregación, como: materia particulada ambiental o materia gaseosa ambiental. La primera se refiere a partículas sólidas o líquidas, sobre las que actúan una serie de fuerzas en correlación a sus propiedades estructurales dando lugar a diferentes mecanismos de depositación (Abarca y Mora, 2007; Arciniégas, 2012).

Los productos químicos son generalmente utilizados en la industria farmacéutica (catalizadores), en la industria metalurgia y minería (sedimentadores de materia), en la industria agronómica y en actividades agrícolas. Los pesticidas e insecticidas son empleados en estas dos últimas actividades para el tratamiento de plagas que afecten las cosechas, y en general están compuestos de elementos artificiales por su gran efectividad. Cole et al. (1988) comprobaron que pueden causar mucho daño interno a humanos u organismos que lo ingieren, de manera que los más estudiados por dicha actividad pesticida o plaguicida son los derivados de compuestos organofosforados (OP) (Mendoza et al., 2015).

Los OP son un grupo de sustancias orgánicas derivadas de la estructura química del fósforo, dentro de sus variantes, los más usuales son Dimetoato, Forate, Demetón y Malatión; este último es sintético, con un peso molecular de 330.36 g/mol, su fórmula química es  $C_{10}H_{19}O_6P_2$ , su solubilidad en agua es de 145 partes por millón (ppm) a 20 °C y en estado libre reacciona violentamente con agentes oxidantes (INECC, 2013; AEP, 2015).

Generalmente la forma técnica contiene un 90% de malatión y un 10% de impurezas (ATSDR, 2003). El agua es fuertemente afectada debido a que los residuos frecuentemente son transportados por la lluvia, la neblina, viento, y mediante la filtración se provoca que se depositen en los mantos acuíferos (Fernández et al., 2010), lo que presenta un impacto negativo sobre la salud pública como intoxicación indirecta por consumo de residuos en alimentos tratados con agua contaminada; daño ecológico, como disrupción del equilibrio ecosistémico; y el económico, pues afecta principalmente la acuicultura.

Osuna-Flores y Riva (2004) comprobaron la toxicidad que se presentaba en peces que fueron expuestos a

diversos compuestos organofosforados como Azinfosmetílico, Diazinon, Paratión, Fenitrotión y Malatión; los cuales provocan daños, que principalmente se ven reflejados en su ciclo reproductivo. Cook et al. (2005) encontraron que el Malatión reduce las tasas de sobrevivencia y desarrollo embrionario de peces, efecto que está relacionado con aparición de malformaciones, la dosis y el tiempo de exposición. Naserabad (2015) reportó que en *Carassius aureatus*, la exposición a malatión causa alteraciones de locomoción, hiperexcitabilidad y pérdida del equilibrio que puede causar daño irreversible.

La acuicultura es una de las actividades económicas más importantes en países en desarrollo, así mismo, de manera indirecta esta actividad es una de las que se ve más afectada por el uso de compuestos organofosforados, tales como el Malatión, en los procesos de producción. La acuicultura contribuye en gran medida a la producción de organismos acuáticos, enfocados principalmente a la alimentación u ornamentación. Esto es importante debido a que el consumo mundial per cápita de pescado va al alza y debido al intenso crecimiento de la acuicultura en la actualidad, proporciona la mitad de todo el pescado destinado al consumo humano. Más de la mitad del valor de las exportaciones pesqueras procede de países en desarrollo (Luchini y Panné, 2008), México entre ellos, posicionado en el lugar número 17 a nivel global, equivalente a un 0.95%(FAO, 2011; 2016).

Por otro lado, la producción pesquera nacional total produjo 1,660,475 toneladas de peso vivo (1,397,620 de captura y 262,855 de la acuicultura), con un valor total de 17,785,719 millones de pesos (10,740,567 por captura y 7,045,152 por acuicultura). Del volumen total, 1,212,082 toneladas fueron para el consumo humano directo, 441,389 toneladas para consumo humano indirecto y 7,004 toneladas para uso industrial, entre ellos peces de ornato, como el *Betta*, "Coi" y "Guppy" (*Poecilia reticulata*)(SAGARPA, 2011).

Debido a esto, es de vital importancia averiguar los efectos tóxicos y de mortalidad en peces, así como determinar las dosis en las que es afectada de manera nociva, y aquellas en las que su ciclo de vida es alterado.

El objetivo de éste trabajo fue investigar el efecto de la exposición del malatión sobre la mortalidad de peces hembra, y sobre etapas tempranas del desarrollo, para lo cual se decidió utilizar *P. reticulata*, un pez de ornato económico, de fácil manejo y obtención, cuya adquisición y alimentación son económicas, y que puede ser mantenido en instalaciones que no son costosas o

elaboradas, además de que es un excelente modelo para estudios básicos de toxicidad de compuestos naturales o artificiales.

## Metodología

### Obtención de organismos

Se obtuvieron los peces (*P. reticulata*) con un proveedor local, y se seleccionaron las hembras, estuvieran éstas preñadas o no. Se colocaron aproximadamente 25 organismos por pecera, cada una de éstas con capacidad de 20 L.

Previamente, las peceras fueron acondicionadas. Para este fin, se diluyeron 0.5 g de sal para acuario (Gal aquarium®) en cada pecera, y se añadieron 20 gotas de anticloro (Cloricill®), posteriormente se utilizó una bomba de oxígeno Silenta®, que proveía a cada pecera de oxígeno con la misma frecuencia. Una vez colocados los peces en las peceras, se permitió la aclimatación de los organismos, y diariamente durante los siguientes 8 días se les cambió el agua, se les alimentó con hojuelas Wardley®, y se tomaron lecturas de pH y temperatura diariamente.

### Aplicación de tratamientos

Una vez aclimatados los organismos, el malatión se administró a dosis de 3.12, 6.25 y 12.5 mg/L (Molina, 2007), por aplicación de pequeños volúmenes de malatión comercial (MALATION 500®) a tres de las cuatro peceras, mientras que a la restante no se le agregó el pesticida, y se consideró como el control; de ésta manera, cada grupo, incluso el control, quedó conformado por 24-26 organismos, en una sola pecera. Se registró diariamente la mortandad durante los primeros cuatro días. Al quinto día, se sacrificaron los organismos que aún estaban vivos, mediante congelamiento.

### Histología

Todos los organismos se colocaron en frascos de vidrio etiquetados y se fijaron con formol al 4%, se diseccionaron al menos dos peces de cada concentración para extraer las gónadas, que posteriormente fueron deshidratadas con concentraciones crecientes de alcohol etílico; aclaradas con alcohol amílico; embebidas en parafina; e incluidas. Los cubos fueron cortados en un micrótomos de rotación Leica RT2125 RTS a 5 µm, y las secciones obtenidas fueron colocadas en portaobjetos gelatinizados. Las laminillas fueron teñidas mediante la técnica de histología de rutina H y E y, por último, se tomaron fotografías en el microscopio óptico Leica, modelo DM500 con cámara digital Leica EC3. Algunas

laminillas se tiñeron por el método de aloxan-Schiff, para detectar proteínas, en especial vitelogenina.

Adicionalmente, durante el estudio, se detectó que algunas de las hembras tuvieron alevines, los cuales, al detectarse su muerte, fueron sometidos al procedimiento histológico estándar (deshidratación, aclaramiento, imbibición e inclusión; corte en microtomo; tinción H y E; observación y fotografía).

## Resultados y discusión

### Mortalidad

Los organismos del grupo control tuvieron una tasa de sobrevivencia del 100% (mortalidad 0.0%) durante los cuatro días posteriores al tratamiento, mientras que los sometidos a la dosis de 3.12 mg/L tuvieron una mortalidad acumulada del 70%; y los peces sometidos a la dosis de 6.25 y 12.5 alcanzaron una mortalidad del 100%, aunque en el grupo de concentración intermedia, el último organismo con vida llegó a las 96 h, y en la pecera con la dosis más alta, la mortalidad total se alcanzó a las 24 h. Se obtuvo una CL<sub>50</sub> de 2.20 mg/L, que se determinó a partir de una regla de proporción, con el uso como referentes de los datos de concentración y porcentaje de mortalidad del tratamiento más bajo.

Se puede establecer que hubo un comportamiento tóxico del malatión sobre *P. reticulata*, puesto que los tres grupos experimentales hubo una tasa de mortalidad mayor al 50%, además de que los organismos sometidos a la dosis más elevada (12.5 mg/L) murieron horas después de la aplicación del tratamiento, siendo también que no fue un sistema abierto, si no que fue un sistema cerrado. En los grupos sometidos a las concentraciones de malatión de 3.12 y 6.25 mg/L, se obtuvieron alevines, aunque la mayoría murieron. Estos resultados muestran una similitud con el trabajo realizado en 2004 por Silva y Samayawardhena, quienes encontraron en los peces adultos de *P. reticulata* expuestos a clorpirifos una disminución en la tasa de supervivencia de los alevines, debido al daño hepático causado por el pesticida en la pez madre, lo que causa una menor calidad del huevo, y un mal desarrollo embrionario.

### Daño morfológico y ultraestructural

El malatión mostró daños a nivel reproductivo en *P. reticulata*, tal como se muestra en los cortes histológicos obtenidos, en los que se puede ver que existen cambios en la estructura de las gónadas, donde se observan folículos en diversos estadios. En las gónadas de los individuos control se observa la estructura histológica normal: Primeramente, se encuentran folículos

previtelogénicos o perinucleares tempranos y tardíos (FNTar y FNTem), conformados por un mesotelio (m) que rodea la estructura folicular correspondiente a la zona folicular (Zf), compuesta por un epitelio plano simple con límites difusos entre cada célula. Dispuestos internamente al folículo en posición central, se observan placas vitelogénicas (PV) de color morado, y adyacentes de manera periférica vesículas proteicas en formación (vp); ambas estructuras presentan una basofilia condensada generalizada. También hay folículos vitelogénico, temprano y tardío (FVTem, FVTar). En la parte más externa y delimitando a los folículos se encuentra una capa de epitelio plano simple (mesotelio (m) con límites difusos; como parte de la zona radiada y la zona folicular (Zf). Interno a los folículos en posición central se observan placas vitelogénicas (PV) y respecto a estas en posición periférica se observan vesículas proteicas en formación (vp), como se observa en la imagen superior de la Figura 1.

El tratamiento con malatión arrojó resultados muy diferentes al testigo, pero muy parecidos entre sí; se pueden describir con diversos folículos en diversos estadios: Folículo previtelogénico o perinuclear temprano (FNTem), conformado por un mesotelio (m) rodeando la estructura folicular correspondiente a la zona folicular (Zf), compuesta por un epitelio plano simple con límites difusos entre cada célula. Internamente al folículo en posición central se observan en coloración morada al núcleo (N), así como la presencia de corpúsculos basófilos (cb); folículo perinuclear tardío (FNTar). En la parte más externa y delimitando a los folículos se encuentra una capa de epitelio plano simple (mesotelio (m) con límites difusos; como parte de la zona radiada y la zona folicular (Zf). Interno a los folículos en posición central se observan placas vitelogénicas (PV) y respecto a estas en posición periférica se observan vesículas proteicas en formación (vp); folículo vitelogénico temprano (FVTem), es posible distinguir la zona folicular la cual delimita al folículo, compuesta por un mesotelio (m), en la parte interna al folículo se encuentran placas de vitelo (PV), así como en las zonas periféricas algunas vacuolas proteicas en formación (vp); folículo vitelogénico tardío (FVTar). En las regiones más externas al folículo se pueden observar ciertos espacios huecos que no se observan en el grupo control, lo que indica daño ultraestructural causado por el malatión, ya que no hay presencia de folículos vitelogénicos tardíos, así como folículos maduros; una fotografía representativa se observa en la imagen inferior de la figura 1 (Wojciech y Ross, 2015).

Con respecto a la tinción de aloxan-Schiff (figura 2), en los individuos del grupo testigo (imagen superior) se

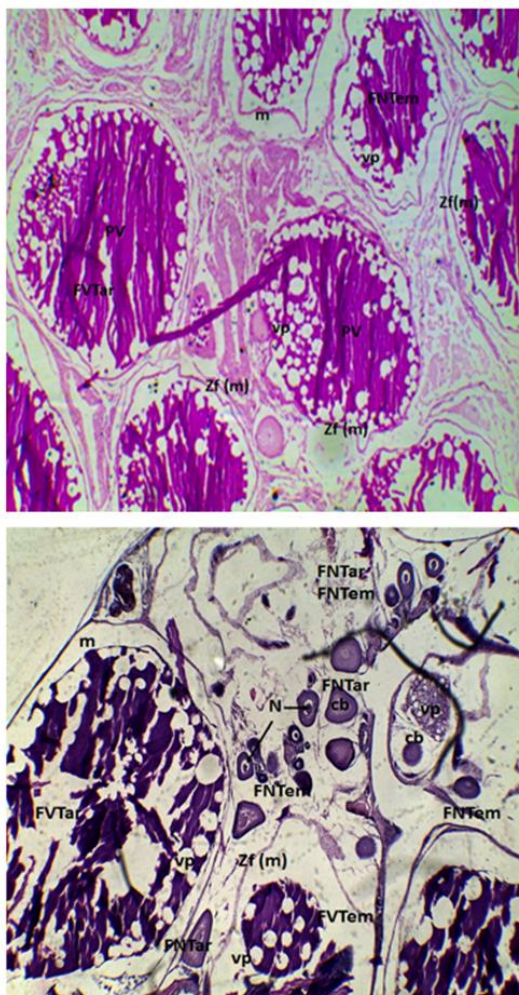
aprecian folículos en distintos estadios de la foliculogénesis: folículos vitelogénicos y previtelogénicos, en los que hay una capa de epitelio germinal que rodea y limita a cada célula folicular. Pueden observarse placas de vitelogenina. En la foto de en medio se observan folículos en diversos estadios: folículo previtelogénico o perinuclear temprano y tardío (FNTar y FNTem), conformado por un mesotelio, compuesto por un epitelio plano simple (m) correspondiente a la zona folicular (Zf), internos al folículo y centrales de coloración color magenta se observan placas vitelogénicas (PV) y adyacentes de manera periférica vesículas proteicas en formación (vp); folículo vitelogénico, temprano y tardío (FVTar y FVTem), en la parte más externa delimita a los folículos un mesotelio (m); como parte de la zona folicular (Zf), en el centro de los folículos hay placas vitelogénicas (PV) y de manera periférica vesículas proteicas en formación (vp), pero no hay folículos maduros lo que indica que el malatión afecta las gónadas de los peces. Por último, en la imagen inferior, se notan folículos en diversos estadios: Folículo previtelogénico o perinucleares tempranos y tardíos (FNTar y FNTem), conformado por un mesotelio (m), correspondiente a la zona folicular (Zf) y la zona radiada, internos al folículo y centrales de coloración magenta placas vitelogénicas (PV) y adyacentes de manera periférica vesículas proteicas en formación (vp); folículo vitelogénico, temprano y tardío (FVTar y FVTem). En la parte más externa delimitando a los folículos, un mesotelio (m); como parte de la zona folicular (Zf). En el centro de los folículos hay placas vitelogénicas (PV) y de manera periférica vesículas proteicas en formación (vp). No hay presencia de folículos en estadio maduro, lo que representa daño reproductivo causado por malatión.

Se sabe que el malatión puede inhibir el metabolismo de la síntesis de proteínas, lo que tiene un impacto sobre el metabolismo de lípidos en pez *Clarias batrachus*, durante su fase de vitelogénesis, en su ciclo reproductivo (Saxena et al., 1989). Además, el malatión inhibe la movilización de fosfolípidos hepáticos a gónadas (Lal y Singh, 1987), por lo cual, en este estudio, a mayor concentración de las dosis, se ve un efecto perjudicial tanto los alevines como en las gónadas de las madres expuestas a malatión.

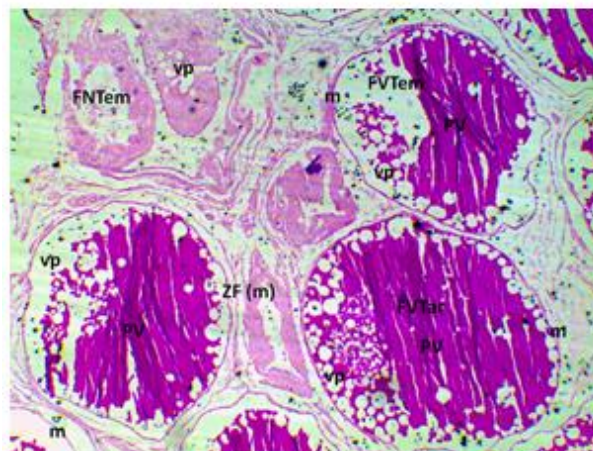
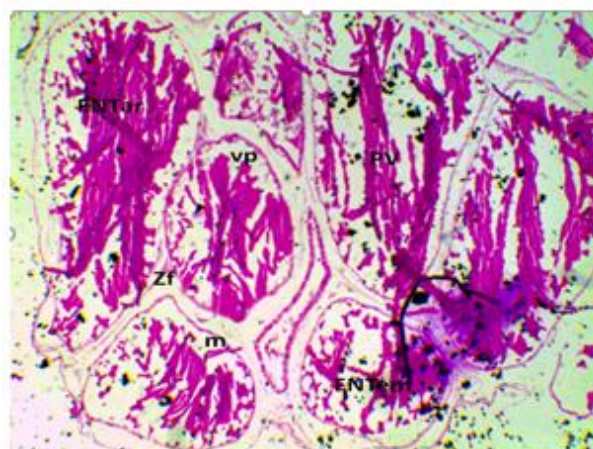
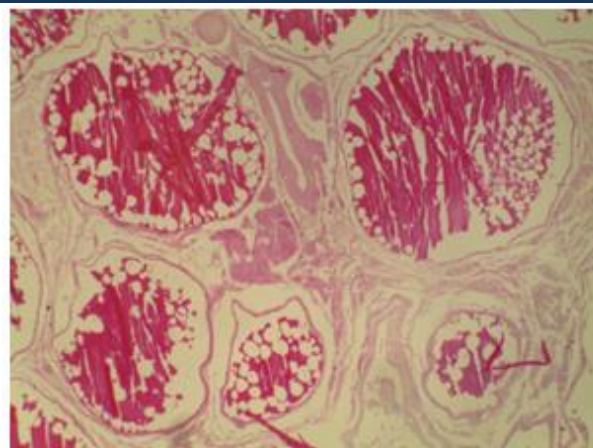
Para el caso de alevines expuestos a malatión a dosis de 6.25 mg/L, en la imagen inferior izquierda se puede apreciar la parte interna del organismo, como es el estómago (E), además hay incluso materia orgánica ingerida por el organismo; se ven costillas (Cs), en la parte caudal hay presencia de musculatura (M), de igual manera se puede apreciar, el corazón e hígado, así de la región cerebral; pero no son estructuras normales sino



amorfas por efecto de malatión. Por último, y con respecto a la dosis de 12.5 mg/L, se observa en la región cefálica el ojo (Ao), con las estructuras correspondientes al cristalino, el cual presenta una basofilia condensada generalizada y el epitelio de la retina, el cual presenta en su estructura una acidofilia homogénea generalizada en el epitelio pigmentario, así como en la capa nuclear externa. Asimismo, se observa en la región cefálica, una alteración en la estructura morfológica; producto del malatión; también se observa tejido muscular de carácter esquelético (Tme), el cual presenta una acidofilia homogénea generalizada. En posición dorsal se observa la columna vertebral (V), conformada por médula, la cual presenta una curvatura amorfa; y tejido óseo alrededor (To), el cual muestra una coloración más picnótica, también hay presencia de hígado (H), y estómago (E).

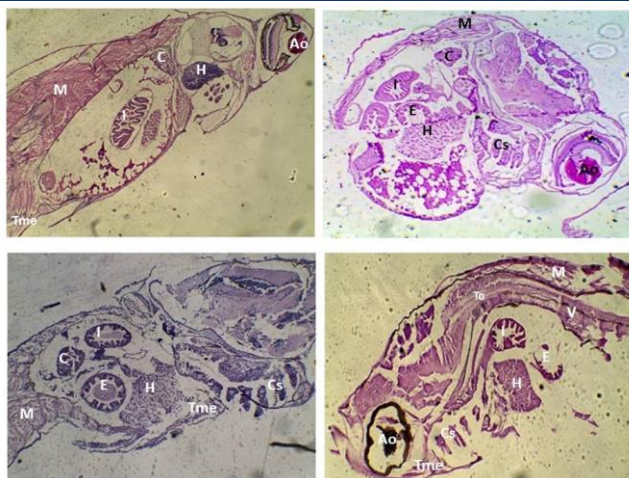


**Figura 1.** Efecto de malatión sobre gónada de hembra de *P. reticulata*. Tinción con H-E, 4x. Arriba: Gónada femenina de grupo control, corte transversal. Abajo: Gónada ovárica de pez sometido a malatión 6.25 mg/L. Se observan folículos en diversos estadios.



**Figura 2.** Ovario de *P. reticulata*; tinción por aloxan-Schiff. Arriba: control. Corte transversal. 4x de ovario de pez En medio Ovario de pez sometido a Malatión 3.12 mg/L, corte transversal 4x. Abajo: Ovario de pez sometido a malatión 12.5 mg/L, corte transversal 4x.





**Figura 3.** Daño en alevines por malatión. Tinción por H y E, 4 x. Arriba, izquierda: Alevín de grupo control. Arriba derecha: Alevín de pez sometido a malatión 3.12 mg/L, 4x. Abajo, izquierda, alevín de pez con 6.25 mg/L de malatión, 4x. Abajo, derecha, alevín de pez sometida a 12.5 mg/L, 4x.

El malatión es agente muy oxidante, su efecto es principalmente sobre las células somáticas de cualquier organismo que esté en contacto con él; sin embargo, no hay estudios suficientes que demuestren que afecte a las células germinales de vertebrados marinos, aunque se conoce que en mamíferos si causa daño en las células germinales (Espinoza et al, 2015; UAM 2018). Los estudios realizados indican que se pueden afectar células somáticas en riñón, corazón e hígado de peces.

## Conclusión

El malatión mostró daños a nivel reproductivo en *P. reticulata*, tal como se muestra en los cortes histológicos obtenidos, ya que existen cambios en la estructura de las gónadas, al no tener presencia de folículos vitelogénicos tardíos, así como folículos maduros; resultados parecidos a los de Ferrero et al., (2001). La estructura tisular interna de alevines expuestos al pesticida, contrastadas con una anatomía estructural en condiciones normales, reportada por Sullivan-Brown et al. (2010) sufrieron cambios significativos (figura 3), así como daños estructurales en la anatomía cardíaca de los organismos expuestos a los tratamientos, coincidiendo con lo reportado por Powell et al., (2006), se comprobó que sí hubo efecto negativo por parte del pesticida; sin embargo, dicho efecto no es posible de definir con exactitud pese a que la cantidad de repeticiones en este trabajo fueron pocas, no obstante resultó útil para recalcar el efecto contra la salud, por lo que se debe implementar el uso de productos alternos, como

pesticidas orgánicos, cultivos aislados o pesticidas con menos impacto en el organismo.

## Agradecimientos

Se agradece al Biól. Omar Ángeles, jefe del Acuario de la FES Iztacala, por su apoyo con material y espacio para colocar las peceras; y al ajolotario de la FES Iztacala, por el préstamo generoso de las peceras utilizadas en este trabajo.

## Referencias

- Abarca M.S., Mora B.M. (2007). Contaminación del agua. *Biocenosis*, 20(1-2): 137-139.
- AEP (Asociación Española de Pediatría), Malatión, (2015). Accesado en 19 de agosto del 2018. <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Malation.pdf>
- Arciniégas S.C. (2012). Diagnóstico y control de material particulado: partículas suspendidas totales y fracción respirable pm<sub>10</sub>. *Luna Azul*. 34: 195-213.
- Atland A., Bjercknes V. (2009). Calidad de agua para el cultivo de smolts en Chile. Norwegian Institute for Water Research (NIVA) Chile S.A., 139 pp.
- ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry), Malathion, (2003). Recuperado el 20 de agosto del 2018 en: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts154.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts154.pdf)
- Cole D.C., McConnell R., Murray D.L., Pacheco A.F. (1988). Pesticide illness surveillance: The nicaraguan experience. *PAHO Bulletin*. 22 (2): 119-132.
- Cook L. W., Paradise C.J., Lom, B. (2005). The pesticide malathion reduces survival and growth in developing zebrafish. *Environ. Toxicol. Chem.* 24(7): 1745-1750.
- Espinoza N.O., Rodriguez B.H., Kemble M.H., Arriaza O.C. (2015). Efecto del insecticida malathion sobre el epitelio germinativo de testículo de ratón CF1. *Interciencia*, 40(8): 560-563.
- FAO. (2011). Desarrollo de la acuicultura. En Enfoque ecosistémico a la acuicultura 4; 75 pp. Roma, Italia: FAO.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.
- Fernández D. G., Mancipe L. C., Fernández, D. C. (2010). Intoxicación por organofosforados. *Revista Med.* 18(1): 84-92.



- Ferrero A. A., Gutiérrez M. M., Cervellini P. M. (2001). Evaluación en laboratorio de la toxicidad aguda de los insecticidas malatión y deltametrina en *Chasmagnathus granulata* Dana (Crustacea, Brachyura, Grapsidae). *Investig. Mar.* 29(1): 107-111.
- INECC (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático), ficha técnica del malatión (2013). Consultado el 19 de agosto del 2018. <http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/malation.pdf>
- Lal B. T. P., Singh T. P. (1987). Impact of pesticides on lipid metabolism in the freshwater catfish *Clarias batrachus*, during the vitellogenic phase of its annual reproductive cycle. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 13(1): 13-23.
- Luchini L., Panné H. S. (2008). Perspectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. Argentina: SAGPyA. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/276266845\\_PERSPECTIVAS\\_EN\\_ACUICULTURA\\_NIVEL\\_MUNDIAL\\_REGIONAL\\_Y\\_LOCAL](https://www.researchgate.net/publication/276266845_PERSPECTIVAS_EN_ACUICULTURA_NIVEL_MUNDIAL_REGIONAL_Y_LOCAL)
- Mendoza E., González-Ramírez C., Martínez-Saldaña M., Avelar-González F., Valdivia-Flore, A., Aldana-Madrid M., Rodríguez-Olibarría G., Jaramillo-Juárez F. (2015). Estudio de exposición a malatión y cipermetrina y su relación con el riesgo de daño renal en habitantes del municipio de Calvillo Aguascalientes, México. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 46 (3): 62-72.
- Molina S.J. (2007). Función hepática y actividad fagocítica de células de tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a diazinón. Tesis de licenciatura, Universidad de Guadalajara.
- Naserabad S.S., Mirvaghefi A., Gerami M.H., Farsani H.G. (2015). Acute toxicity and behavioral changes of the Gold Fish (*Carassius auratus*) exposed to malathion and minosan. *Ir. J. Toxicol.* 8 (27): 1203-1208.
- Osuna-Flores, I., Riva, M. C. (2004). Plaguicidas organofosforados en camarones, sedimento y agua superficial de la Bahía de Ohuira, Topolobampo, Sinaloa, México. *Afinidad* 61(513): 387-392.
- Powell R, Bubenshchikova E., Fukuyo Y., Hsu C., Lakiza O., Nomura H, Renfrew E., Garrity D., Obara T. (2016). Wtip is required for proepicardial organ specification and cardiac left/right asymmetry in zebrafish. *Mol. Med. Rep.* 14(3): 2665-2678.
- Saxena P.K., Singh V.P., Kondal J.K., Soni G.L. (1989). Effects of some pesticides on in vitro lipid and protein synthesis by the liver of the freshwater teleost *Channa punctatus* (BL). *Environ. Polut.* 58(4): 273-280.
- Silva P.M.C.S, Samayawardhena L.A. (2004). Effects of chlorpyrifos on reproductive performance of guppy (*Poecilia reticulata*). *Chemosphere* 58(9): 1293-1299.
- Sullivan-Brown J., Bisher M. E., Burdine R.D. (2010). Embedding, serial sectioning and staining of zebrafish embryos using JB-4 resin. *Nat. Protoc.* 6(1): 46-55.
- UAM: <http://bindani.izt.uam.mx>. Consultada el 5 de diciembre del 2018.
- Wojciech P, Ross M. (2015). Ross. Histología: Texto y atlas. Correlación con biología molecular y celular. 7 ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia.