

## Anexos

**Anexo 1.** Tipos de pesticidas y sus organismos objetivo, (Baird & Cann, 2014).

Tipo de pesticida	Organismo objetivo
Acaricidas	Ácaros
Algicidas	Algas
Avicidas	Aves
Bactericidas	Bacterias
Desinfectantes	Microorganismos
Fungicidas	Hongos
Herbicidas	Plantas
Insecticidas	Insectos
Larvicidas	Larvas de insectos
Molusquicidas	Caracoles y babosas
Nematicidas	Nematodos
Picicidas	Peces
Raticidas	Roedores
Termiticidas	Termitas

**Anexo 2.** Clasificación de la peligrosidad de los pesticidas según la OMS y la EPA estadounidense (Baird & Cann, 2014).

Número de categoría de la OMS	Categoría de la EPA	Descripción de la OMS	Dosis oral letal media (DOL) mg/Kg	Pesticidas sintéticos y naturales
Ia	I	Extremadamente peligroso	<5	Aldicarb, paratión, metilparatión, terbufós
Ib	I	Altamente peligroso	5-50	Metilazonfós, carbofurán, diclorvós, nicotina
II	II	Moderadamente peligroso	50-500	Carbaril, clorpirifós, diazinón, dimetoato, endosulfán, fenitrotión, lindano, paraquat, propoxur, rotenona
III	III	Ligeramente peligroso	500-5.000	Alacloro, malatión, metolacloro, glifosato, aletrina
III	IV		>5.000	

**Anexo 3.** Tabla de desarrollo normal de *Oncorhynchus mykiss* (Bejarano, 1983).

TIEMPO	NOMBRE DEL ESTADIO	CARACTERÍSTICAS DEL ESTADIO
0 horas	Ovocito maduro sin fertilizar	
8-10 horas	Primera segmentación	-Este estadio comprende desde la iniciación del primer surco hasta la aparición del segundo. -La segmentación es meroblástica y discoidal, y se da solamente en una pequeña porción del huevo total, en el disco germinal que mide 1.0 mm. -El disco se localiza en posición dorsal sobre una masa de gotas de lípidos de la superficie vitelina. -La primera segmentación ocurre aproximadamente a las 8 horas después de la fertilización, dividiéndose mitóticamente el disco germinal en dos blastómeros iguales. -Después de 5-8 horas de la fertilización, el polo vegetativo es notorio sobre la superficie del vitelo, a 180° del disco germinal.
11- 12 horas	Segunda segmentación	-Va desde la iniciación del segundo surco hasta la aparición del tercero. -Se forman 4 blastómeros iguales, siendo el plano del clivaje perpendicular al plano del clivaje inicial.
17 horas	Tercera segmentación	-Se forman 8 células iguales en el tercer clivaje. -El plano es paralelo al del primero. -Los blastómeros comienzan a levantarse de su posición aplanada dejando una cavidad de segmentación o blastocele, el cual se llena de líquido, quedando limitado por las células centrales del blastodermo y por la superficie del vitelo
20 horas	Cuarta segmentación	-Se forman 16 blastómeros que se distribuyen en una semiesfera de 1.0 mm de diámetro.
22-41 horas	Quinta segmentación	-Puede darse en un lapso amplio de tiempo, pero la mayoría de los huevos en este estadio segmentan hacia las 22 horas, formando 32 células.
26 horas (2 día)	Sexta segmentación	-Se forman 64 células muy pequeñas que comienzan a apilarse en el disco germinal, sin que se presente alargamiento en un plano.
30 horas	Blástula	-La mayoría de los embriones se convierten en blastodermos en el primer día de vida. -La blástula de 180 blastómeros, se presenta como un disco compacto y algo alargado, homogéneo, sin señales de surcos de segmentación.
37 a 61 horas (2-3 días)	Blastómero con células en tres capas	-Las células del blastodermo se hacen progresivamente más pequeñas y numerosas, agrupándose en tres capas. -La blástula se va aplanando y extendiendo sobre el vitelo. -La membrana vitelina forma una corona blanquecina, alrededor del disco. -El diámetro del disco es de aproximadamente 1.5 mm
90 a 123 horas (3-5 días)	Gastrulación	-Se inicia una diferenciación tisular que origina células especiales que involucionan bajo el blastodermo, formando el endodermo primitivo del que se derivarán la mayoría de órganos internos.

		<p>-Las otras células del blastodermo constituyen el epiblasto y continúan deslizándose sobre el vitelo conformando más tarde el ectodermo.</p> <p>-Hacia las 100 horas ya se ha iniciado la gastrulación que se evidencia por la periferia del blastodisco uniformemente engrosada, iniciando la región de proliferación celular y probable involución</p> <p>-Desde un punto específico del anillo germinal, se extiende hacia el centro del área blastodérmica, el escudo embrionario engrosado.</p>
151 a 156 horas (6 día)	Gástrula tardía y neurulación	<p>-Se hace visible la quilla neural sobre el labio dorsal del blastoporo, indicando el eje antero- posterior de crecimiento del embrión.</p> <p>-Se hace presente la notocorda y puede verse el extremo anterior de la quilla neural. La quilla representa el cerebro y la cuerda espinal, en sus extremos anterior y posterior, respectivamente.</p>
177 a 211 horas (7-9 días)	Vesículas óticas y primeras somitas	<p>-El embrión tiene 17- 24 somitas de origen mesodermal y se observa el abultamiento óptico que se levanta a partir del ectodermo de la quilla neural.</p> <p>-Una porción del ectodermo se hunde para formar la vesícula ótica y la otra formará la línea lateral.</p> <p>-El labio del blastoporo avanza rápidamente para formar el tapón vitelino.</p> <p>-Cuando se cierra el blastoporo, ya se han formado el cristalino, el cerebro anterior, los lóbulos ópticos, el cerebelo y la medula.</p>
242 a 272 horas (10-11 días)	60 somitas y botones de las aletas pectorales	<p>-Se hacen presentes en el embrión los lóbulos olfatorios del cerebro.</p> <p>-Se pueden distinguir las tres regiones cerebrales y los botones de las aletas pectorales.</p> <p>-La cuerda dorsal se desarrolla hacia el extremo posterior.</p> <p>-El endodermo primitivo se diferencia en tres partes: la cuerda en la línea central del embrión, un tejido de células endodermales secundarias que formarán el tracto digestivo y derivados, y el resto, es mesodermo localizado a lado y lado de la cuerda.</p> <p>-La región nasal se desarrolla como un engrosamiento del ectodermo y más tarde se hunde para formar las fosas nasales.</p> <p>-Las células mesenquimales emigran del mesodermo embrional hasta las áreas de la membrana vitelina adyacente, para formar islas sanguíneas de las que se originarán sangre y vasos sobre la superficie del vitelo.</p> <p>-En el saco pericardial se forma un tubo que se localiza bajo la faringe, constituyendo el corazón.</p>
302 a 332 horas (12-13 días)	Latido cardíaco regular y actividad miogénica	<p>-Se forman las primeras hendiduras branquiales en la región de la faringe que se observan como abultamientos o yemas, creciendo al mismo tiempo los opérculos que las cubren.</p> <p>-Se producen los primeros movimientos del embrión.</p> <p>-El corazón, ya localizado en su posición ventral detrás de los arcos branquiales, late activa y regularmente</p>
363 a 393 horas	Pigmentación retinal inicial	<p>-Se pueden apreciar pigmentos oculares aun a través del corión.</p> <p>-Las branquias se destacan bastante.</p> <p>-Los orificios nasales ya están bien formados.</p>

(15- 16 días)		-Se establece la circulación en el hígado, en los arcos branquiales y en los ojos pigmentados. -Comienzan a formarse los otolitos en los otocistos.
423 a 605 horas (17-25 días)	Pigmentación corporal por melanóforos y aumento en el tamaño del embrión	-Se presenta el crecimiento posterior del opérculo que cubre las hendiduras branquiales. -Aumento en el tamaño del embrión, que se aprecia más oscuro por acción de los melanóforos. -Los ojos están completamente formados notándose perfectamente el cristalino dentro de la cavidad ocular.
665 horas (28- 29 días)	Periodo de preeclósión	-El embrión está completamente formado y sobrepasa con su enrollamiento en el vitelo la porción cefálica. -La pigmentación corporal se hace más notoria. -Las glándulas de eclosión que segregarán las enzimas disolutivas del corión para permitir la eclosión del alevino a los 29 días, se encuentran formadas en la superficie de la cabeza.
696 horas (29- 30 días)	Eclosión del alevino	-Varias partes del corión son disueltas por enzimas disolutivas. -La ruptura y desprendimiento del embrión se acelera por movimientos vigorosos del cuerpo y latigazos caudales. -El alevino recién nacido permanece adosado a una porción de vitelo rodeada por el saco vitelino, el cual se irá consumiendo

#### Anexo 4. Características del fijador de Bouin (Montalvo, 2010).

Líquido fijador de Bouin
<p>Modo de preparación:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Solución acuosa saturada de ácido pícrico .....750mL</li> <li>• Solución de formaldehído (37% a 40%) .....250mL</li> <li>• Ácido acético glacial .....50mL</li> </ul>
<p>Es un buen fijador de uso rutinario. Tiene un buen poder de penetración y de difusión. Ofrece resultados satisfactorios con ciertos tricrómicos como el de Masson. Pueden fijarse piezas de un centímetro de grosor y dos o tres centímetros de longitud. Se le emplea con resultados óptimos en la fijación de embriones y fetos pequeños pues ejerce cierto poder descalcificante.</p> <p>Antes de la inclusión, es conveniente eliminar el ácido pícrico de las muestras (tiñe de color amarillo intenso a los tejidos). El lavado se hace con una solución de alcohol etílico al 70% a la que se añaden algunas gotas de una solución al 5% de carbonato de litio. El lavado finaliza cuando el alcohol litinado ya no muestra color amarillento.</p>

**Anexo 5.** Prueba ANOVA realizada con ayuda del programa IBM SPSS Statistics**ANOVA**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
NI1	Inter-grupos	214,933	4	53,733	3,932	,036
	Intra-grupos	136,667	10	13,667		
	Total	351,600	14			
NI2	Inter-grupos	1936,933	4	484,233	13,757	,000
	Intra-grupos	352,000	10	35,200		
	Total	2288,933	14			
NI3	Inter-grupos	4454,933	4	1113,733	17,678	,000
	Intra-grupos	630,000	10	63,000		
	Total	5084,933	14			
NI4	Inter-grupos	5603,600	4	1400,900	27,397	,000
	Intra-grupos	511,333	10	51,133		
	Total	6114,933	14			
NI5	Inter-grupos	8113,067	4	2028,267	87,677	,000
	Intra-grupos	231,333	10	23,133		
	Total	8344,400	14			
NI6	Inter-grupos	7197,600	4	1799,400	113,886	,000
	Intra-grupos	158,000	10	15,800		
	Total	7355,600	14			

**Anexo 6.** Significancia de la prueba estadística de Levene realizado con ayuda del programa IMB SPSS Statistics.**Prueba de homogeneidad de varianzas**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
NI1	1,724	4	10	,221
NI2	,962	4	10	,469
NI3	3,337	4	10	,056
NI4	7,817	4	10	,054
NI5	1,037	4	10	,435
NI6	3,460	4	10	,051

**Anexo 7.** Prueba de Tukey realizada con ayuda del programa IBM SPSS Statistics.

**Comparaciones múltiples**

HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) trat	(J) trat	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
NI1	1,00	2,00	3,66667	3,01846	,744	-6,2673	13,6007
		3,00	8,66667	3,01846	,096	-1,2673	18,6007
		4,00	1,33333	3,01846	,991	-8,6007	11,2673
		5,00	9,33333	3,01846	,068	-,6007	19,2673
	2,00	1,00	-3,66667	3,01846	,744	-13,6007	6,2673
		3,00	5,00000	3,01846	,498	-4,9340	14,9340
		4,00	-2,33333	3,01846	,933	-12,2673	7,6007
		5,00	5,66667	3,01846	,386	-4,2673	15,6007
	3,00	1,00	-8,66667	3,01846	,096	-18,6007	1,2673
		2,00	-5,00000	3,01846	,498	-14,9340	4,9340
		4,00	-7,33333	3,01846	,184	-17,2673	2,6007
		5,00	,66667	3,01846	,999	-9,2673	10,6007
	4,00	1,00	-1,33333	3,01846	,991	-11,2673	8,6007
		2,00	2,33333	3,01846	,933	-7,6007	12,2673
		3,00	7,33333	3,01846	,184	-2,6007	17,2673
		5,00	8,00000	3,01846	,133	-1,9340	17,9340

	5,00	1,00	-9,33333	3,01846	,068	-19,2673	,6007
		2,00	-5,66667	3,01846	,386	-15,6007	4,2673
		3,00	-,66667	3,01846	,999	-10,6007	9,2673
		4,00	-8,00000	3,01846	,133	-17,9340	1,9340
N12	1,00	2,00	18,66667	4,84424	,021	2,7239	34,6095
		3,00	29,33333	4,84424	,001	13,3905	45,2761
		4,00	-,33333	4,84424	1,000	-16,2761	15,6095
		5,00	14,33333	4,84424	,084	-1,6095	30,2761
	2,00	1,00	-18,66667	4,84424	,021	-34,6095	-2,7239
		3,00	10,66667	4,84424	,254	-5,2761	26,6095
		4,00	-19,00000	4,84424	,019	-34,9428	-3,0572
		5,00	-4,33333	4,84424	,893	-20,2761	11,6095
	3,00	1,00	-29,33333	4,84424	,001	-45,2761	-13,3905
		2,00	-10,66667	4,84424	,254	-26,6095	5,2761
		4,00	-29,66667	4,84424	,001	-45,6095	-13,7239
		5,00	-15,00000	4,84424	,068	-30,9428	,9428
	4,00	1,00	,33333	4,84424	1,000	-15,6095	16,2761
		2,00	19,00000	4,84424	,019	3,0572	34,9428
		3,00	29,66667	4,84424	,001	13,7239	45,6095
		5,00	14,66667	4,84424	,075	-1,2761	30,6095
	5,00	1,00	-14,33333	4,84424	,084	-30,2761	1,6095



	2,00		4,33333	4,84424	,893	-11,6095	20,2761
	3,00		15,00000	4,84424	,068	-,9428	30,9428
	4,00		-14,66667	4,84424	,075	-30,6095	1,2761
NI3	1,00	2,00	44,66667	6,48074	,000	23,3380	65,9953
		3,00	44,00000	6,48074	,000	22,6714	65,3286
		4,00	14,33333	6,48074	,250	-6,9953	35,6620
		5,00	26,66667	6,48074	,014	5,3380	47,9953
	2,00	1,00	-44,66667	6,48074	,000	-65,9953	-23,3380
		3,00	-,66667	6,48074	1,000	-21,9953	20,6620
		4,00	-30,33333	6,48074	,006	-51,6620	-9,0047
		5,00	-18,00000	6,48074	,110	-39,3286	3,3286
	3,00	1,00	-44,00000	6,48074	,000	-65,3286	-22,6714
		2,00	,66667	6,48074	1,000	-20,6620	21,9953
		4,00	-29,66667	6,48074	,007	-50,9953	-8,3380
		5,00	-17,33333	6,48074	,129	-38,6620	3,9953
	4,00	1,00	-14,33333	6,48074	,250	-35,6620	6,9953
		2,00	30,33333	6,48074	,006	9,0047	51,6620
		3,00	29,66667	6,48074	,007	8,3380	50,9953
		5,00	12,33333	6,48074	,375	-8,9953	33,6620
	5,00	1,00	-26,66667	6,48074	,014	-47,9953	-5,3380
		2,00	18,00000	6,48074	,110	-3,3286	39,3286
		3,00	17,33333	6,48074	,129	-3,9953	38,6620

		4,00	-12,33333	6,48074	,375	-33,6620	8,9953
NI4	1,00	2,00	52,66667	5,83857	,000	33,4515	71,8819
		3,00	51,00000	5,83857	,000	31,7848	70,2152
		4,00	24,66667	5,83857	,012	5,4515	43,8819
		5,00	33,66667	5,83857	,001	14,4515	52,8819
	2,00	1,00	-52,66667	5,83857	,000	-71,8819	-33,4515
		3,00	-1,66667	5,83857	,998	-20,8819	17,5485
		4,00	-28,00000	5,83857	,005	-47,2152	-8,7848
		5,00	-19,00000	5,83857	,053	-38,2152	,2152
	3,00	1,00	-51,00000	5,83857	,000	-70,2152	-31,7848
		2,00	1,66667	5,83857	,998	-17,5485	20,8819
		4,00	-26,33333	5,83857	,008	-45,5485	-7,1181
		5,00	-17,33333	5,83857	,082	-36,5485	1,8819
	4,00	1,00	-24,66667	5,83857	,012	-43,8819	-5,4515
		2,00	28,00000	5,83857	,005	8,7848	47,2152
		3,00	26,33333	5,83857	,008	7,1181	45,5485
		5,00	9,00000	5,83857	,561	-10,2152	28,2152
	5,00	1,00	-33,66667	5,83857	,001	-52,8819	-14,4515
		2,00	19,00000	5,83857	,053	-,2152	38,2152
		3,00	17,33333	5,83857	,082	-1,8819	36,5485
		4,00	-9,00000	5,83857	,561	-28,2152	10,2152
NI5	1,00	2,00	60,66667	3,92711	,000	47,7422	73,5911

	3,00		64,00000'	3,92711	,000	51,0755	76,9245
	4,00		33,33333'	3,92711	,000	20,4089	46,2578
	5,00		48,00000'	3,92711	,000	35,0755	60,9245
2,00	1,00		-60,66667'	3,92711	,000	-73,5911	-47,7422
	3,00		3,33333	3,92711	,909	-9,5911	16,2578
	4,00		-27,33333'	3,92711	,000	-40,2578	-14,4089
	5,00		-12,66667	3,92711	,055	-25,5911	,2578
3,00	1,00		-64,00000'	3,92711	,000	-76,9245	-51,0755
	2,00		-3,33333	3,92711	,909	-16,2578	9,5911
	4,00		-30,66667'	3,92711	,000	-43,5911	-17,7422
	5,00		-16,00000'	3,92711	,015	-28,9245	-3,0755
4,00	1,00		-33,33333'	3,92711	,000	-46,2578	-20,4089
	2,00		27,33333'	3,92711	,000	14,4089	40,2578
	3,00		30,66667'	3,92711	,000	17,7422	43,5911
	5,00		14,66667'	3,92711	,025	1,7422	27,5911
5,00	1,00		-48,00000'	3,92711	,000	-60,9245	-35,0755
	2,00		12,66667	3,92711	,055	-,2578	25,5911
	3,00		16,00000'	3,92711	,015	3,0755	28,9245
	4,00		-14,66667'	3,92711	,025	-27,5911	-1,7422
NI6	1,00	2,00	56,66667'	3,24551	,000	45,9854	67,3479
		3,00	57,00000'	3,24551	,000	46,3188	67,6812
		4,00	28,66667'	3,24551	,000	17,9854	39,3479

	5,00		50,66667*	3,24551	,000	39,9854	61,3479
2,00	1,00		-56,66667*	3,24551	,000	-67,3479	-45,9854
	3,00		,33333	3,24551	1,000	-10,3479	11,0146
	4,00		-28,00000*	3,24551	,000	-38,6812	-17,3188
	5,00		-6,00000	3,24551	,400	-16,6812	4,6812
3,00	1,00		-57,00000*	3,24551	,000	-67,6812	-46,3188
	2,00		-,33333	3,24551	1,000	-11,0146	10,3479
	4,00		-28,33333*	3,24551	,000	-39,0146	-17,6521
	5,00		-6,33333	3,24551	,353	-17,0146	4,3479
4,00	1,00		-28,66667*	3,24551	,000	-39,3479	-17,9854
	2,00		28,00000*	3,24551	,000	17,3188	38,6812
	3,00		28,33333*	3,24551	,000	17,6521	39,0146
	5,00		22,00000*	3,24551	,000	11,3188	32,6812
5,00	1,00		-50,66667*	3,24551	,000	-61,3479	-39,9854
	2,00		6,00000	3,24551	,400	-4,6812	16,6812
	3,00		6,33333	3,24551	,353	-4,3479	17,0146
	4,00		-22,00000*	3,24551	,000	-32,6812	-11,3188

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.