



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA**

**CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS Y CULTIVO DE
Girardinichtys multiradiatus, COMO ORGANISMO DE
PRUEBA EN BIOENSAYOS CON DIFERENTES
TOXICOS DE PRUEBA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O**

P R E S E N T A :

JAVIER GILBERTO SANCHEZ GONZALEZ

DIRECTOR DE TESIS :

M. EN C. FELIPE FERNANDO MARTINEZ JERONIMO

ASESOR INTERNO :

M. EN C. ISAIAS H. SALGADO UGARTE



MEXICO, D. F.

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO.

	paginas.
RESUMEN.....	1
1.-INTRODUCCION.....	3
1.1- Bioensayos de toxicidad aguda.....	6
1.2- Bioensayos de toxicidad crónica.....	8
1.3- Bioensayos estáticos y flujo continuo.....	9
1.4- Descripción de la especie de prueba.....	13
1.5- Descripción de la zona de colecta.....	18
2.-JUSTIFICACION.....	22
3.-ANTECEDENTES.....	24
3.1- Tóxicos de referencia.....	24
4.-OBJETIVOS.....	35
4.1-General.	
4.2-Particulares.	
5.-METODOLOGIA.....	36
5.1- Selección de la especie de prueba.....	36
5.2- Colecta y transporte.....	37
5.3- Preaclimatación y aclimatación formal.....	38
5.4- Reproducción y obtención de juveniles.....	40
5.5- Procedimiento de pruebas de toxicidad.....	40
5.6- Métodos para la estimación de CL_{50}	42
6.-RESULTADOS.....	44
7.-ANALISIS DE RESULTADOS.....	61
8.-CONCLUSIONES.....	68
9.-BIBLIOGRAFIA.....	70

RESUMEN.

Como bioensayo acuático se conoce el uso de material viviente para evaluar los efectos de sustancias en el agua, determinando su potencialidad para producir algún efecto específico. Frecuentemente involucra el uso de compuestos de referencia estandarizados. En este trabajo se establecen las condiciones generales para el cultivo en laboratorio de *Girardinichtys multiradiatus*, (Pisces: Teleostei), determinando su sensibilidad como organismo de prueba mediante bioensayos de toxicidad aguda con tóxicos como Dodecil sulfato de sodio (SDS), Cloruro de cadmio (Cd^{+2}) y Dicromato de potasio (Cr^{+6}).

Para el mantenimiento de estos organismos en laboratorio se encontró que las siguientes características del agua son las más favorables: 1) acuarios con un volumen de 40 l., provistos de un filtro biológico y aireación; 2) temperatura de 19-24 °C; 3) Densidad de carga de 1 pez/2 l de agua; 4) pH=8; 5) amonio <0.5 mg/l; 6) fotoperíodo 12:12 horas de luz.

La especie puede ser utilizada como organismo de prueba ya que reúne entre otras las siguientes características: 1) es vivípara; 2) crías de un tamaño convenientemente grande; 3) fácil mantenimiento en laboratorio; 4) omnívora, aceptando cualquier tipo de alimento para peces; 5) se reproduce en cautiverio, teniendo un promedio de 40 crías por camada; 6) se

restablece rápidamente después de haber padecido las enfermedades más comunes de peces de ornato.

G. multiradiatus presenta las siguientes concentraciones letales medias a 96 h (CL_{50} 96 h): SDS.= 19.575 mg/l \pm 1.4 mg/l ; Cadmio= 0.080 mg/l; Cromo= 174.985 mg/l \pm 7.05 mg/l. Se concluye que la especie presenta una sensibilidad semejante a la de *Daphnia magna* y *Salmo gairdneri*.

1.-INTRODUCCION.

Como bioensayo acuático se conoce el uso de material viviente para evaluar los efectos de sustancias en el agua, determinando su potencialidad para producir algún efecto específico. Frecuentemente involucra el uso de compuestos de referencia estandarizados (Alabaster, 1980).

En la evaluación de la toxicidad de un compuesto o efluente, es conveniente emplear representantes de diferentes taxa como organismos de prueba. Esto permite detectar las especies más sensibles y además da una idea de los posibles impactos producidos en los diferentes niveles dentro de los ecosistemas. La evaluación de la toxicidad basada en una sola especie representa un cierto grado de incertidumbre, ya que en ocasiones tal especie no es la más sensible, o bien no es un organismo que se distribuya naturalmente en el medio que se pretende proteger; de ahí que cuando solo sea posible realizar bioensayos con una especie o un número limitado de especies, deberán emplearse principalmente organismos sensibles. (Martínez, 1988)

Practicamente cualquier organismo puede ser sujeto de experimentación en bioensayos, aunque actualmente se ponga énfasis en algunos grupos taxonómicos importantes desde el punto de vista ecológico o comercial.

Los peces son un grupo taxonómico que ha recibido mayor atención en toxicología acuática, por considerarse que son los organismos más importantes económica, deportiva y ecológicamente. De las principales familias de peces consideradas importantes para bioensayos, citadas en Peltier y Weber, (1985); Horning y Weber, (1985), tenemos a los Cyprinidae y los Salmonidae; dentro de los primeros encontramos a *P. promelas* que quizás es el pez dulceacuícola más empleado en pruebas de toxicología, y junto con *D. magna* contribuyen el conjunto básico de organismos de prueba, considerando que la información obtenida de sus bioensayos puede ser suficiente para determinar la toxicidad de un compuesto o efluente.

Una de las principales características de los bioensayos acuáticos es que la información generada tiene como objetivo fundamental la protección contra el efecto adverso de agentes xenobióticos a las poblaciones y comunidades en la naturaleza, a diferencia de los bioensayos tradicionales con mamíferos cuya información es extrapolada hacia posibles efectos sobre la salud humana (Martínez, 1970.)

Cada día se conoce mejor el valor de estas pruebas biológicas en relación con el control de la eliminación y tratamiento de desechos. Por lo general el examen químico de un desecho industrial complejo no proporciona suficientes datos, ya que

muchos de los diversos componentes tóxicos no se pueden identificar, separar y cuantificar por procedimientos químicos, y a menudo no se conoce el grado de toxicidad de cada una de estas numerosas sustancias y de las complejas mezclas que frecuentemente se presentan. La toxicidad de los desechos se puede alterar por interacciones entre sus componentes individuales y los productos minerales disueltos que se presentan en cantidades muy variables en las aguas receptoras, así como por efectos de diversas variables ambientales e incluso de la acción de los organismos (APHA *et al.*, 1985).

Los bioensayos se clasifican de acuerdo a los siguientes criterios (Martínez, 1988).

A) Por sus efectos, los bioensayos son de toxicidad aguda subcrónica o crónica.

B) De acuerdo al tiempo de desarrollo, son de corta, mediana o larga duración.

C) Por la forma de aplicación de los tratamientos, son estáticos, estáticos con renovación periódica o de flujo continuo.

D) De acuerdo al tipo de tóxico aplicado, los bioensayos evalúan el efecto de compuestos químicos específicos, la acción de mezclas en proporciones conocidas, o la toxicidad de efluentes.

E) Los bioensayos pueden ser monoespecíficos o multiespecíficos, pudiendo realizarse en laboratorio o "in situ",

e incluso simulando microecosistemas.

A continuación se describen brevemente los principales tipos:

1.1- BIOENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA.

Las pruebas de toxicidad aguda generalmente son de corta duración ya que la principal característica de este tipo de ensayo es que el tóxico tiene un rápido mecanismo de acción, siendo letal a menos que el organismo escape del ambiente tóxico (Sprague, 1969). La mortalidad es usualmente la respuesta evaluada en estas pruebas, aunque puede haber otras manifestaciones de efectos agudos, tales como el desequilibrio, la inmovilización el movimiento errático y la hiperactividad, que pueden, en última instancia, preceder al deceso de los organismos. (Waldichuck, 1973)

Por lo general estas pruebas se extienden hasta las 96 horas, cuando se utilizan peces o macroinvertebrados (Sprague, 1969), pero cuando se trata de microinvertebrados el tiempo es de 48 horas, debido a que el ciclo de vida es más corto (Peltier y Weber, 1985).

Las pruebas con efluentes se pueden dividir en las siguientes etapas:

a) Prueba de clasificación o preliminares. En esta etapa se exponen los organismos al efluente sin diluir por 24 horas, para determinar si la toxicidad es elevada; se considera que existen efectos agudos si se presenta una mortalidad mayor del 10% , prosiguiendo con la siguiente etapa. Por otro lado si la mortalidad no excede al 10% se considera que no existe toxicidad aguda.

b) Pruebas de determinación de intervalo. En esta prueba se aplica de tres a cinco concentraciones bastante espaciadas como son; 1, 10, y 50%, en el caso de efluentes, ó 1, 10, y 100 mg/l en el caso de tóxicos aislados. Su duración es por lo general de 24 horas. Con los resultados obtenidos durante esta prueba se establecen las concentraciones a usar en la siguiente etapa.

c) Pruebas definitivas. Se realiza en periodos de 48 a 96 horas, dependiendo de la especie, aplicándose cuando menos cinco diluciones o concentraciones espaciadas de acuerdo a una serie geométrica que puede ser: 6.25, 12.5, 25, 50, 100% en el caso de efluente. La razón de hacerlo de esta manera es debido al tipo de análisis estadístico que normalmente se aplica a los resultados, además de que las respuestas biológicas con frecuencia se ajustan a esta distribución.

En todas las pruebas se corren controles, los cuales consisten en colocar igual número de organismos a los usados en

agua de dilución, de esta manera se distingue la mortalidad debida a factores ajenos al tóxico empleado (Peltier y Weber, 1985).

Se toma como regla general que una mortalidad superior al 10% en los testigos, invalida toda la prueba, por lo cual se debe de rechazar el lote de organismos empleados.

1.2- BIOENSAYOS DE TOXICIDAD CRONICA.

Estas pruebas se basan en la determinación de efectos subletales, mediante la exposición continua y prolongada de los organismos al compuesto tóxico o efluente. Su duración generalmente es de por lo menos un ciclo de vida completo de las especies de prueba, aunque también pueden ser pruebas de ciclo parcial. Su tiempo de realización es variable ya que depende de la especie trabajada (Martínez, 1988).

Los bioensayos crónicos son necesarios en la evaluación toxicológica de compuestos y efluentes, ya que una concentración que no produce efectos agudos, no significa que en exposiciones prolongadas sea inocua, puesto que se pueden producir efectos crónicos que en algunos casos derivan incluso en la muerte de los individuos o en la reducción de su potencial biótico. Un daño a

nivel de proceso reproductivo, puede no ser letal, pero si conducir finalmente al desplazamiento o eliminación de la población de su medio al no ser posible que deje descendencia.

Las respuestas subletales evaluadas en los bioensayos de toxicidad crónica son muy variables e incluyen efectos a diferentes niveles de organización de los organismos: bioquímico, celular, histológico, fisiológico, o de individuo como un todo. Si se considera que uno de los propósitos de la toxicología acuática es determinar las concentraciones a las cuales se producen daños a los ecosistemas, también habrán de considerarse las respuestas producidas a niveles de organización superiores, esto es poblaciones y comunidades.

1.3- BIOENSAYOS ESTATICOS Y DE FLUJO CONTINUO.

Esta clasificación se hace con base en la forma en que se realizan los tratamientos, esto es, la manera en que se suministra o aplica el agua de prueba en los recipientes de ensayo (Martínez, 1988).

Pruebas estáticas. Este tipo de pruebas incluyen las de no renovación, en las cuales los organismos de prueba son expuestos a la misma solución durante la duración del bioensayo; y las

renovables, donde los organismos son expuestos a una solución fresca de la misma concentración cada 24 horas, u otro intervalo establecido de acuerdo a las necesidades del estudio. La exposición puede darse por transferencia de los organismos de prueba de una cámara a otra o por reemplazamiento total o parcial de la solución en la cámara de prueba. Se recomienda usar el método de renovación, debido a que es posible que la concentración del tóxico cambie con el tiempo por adsorción en las paredes del recipiente, por volatilización o absorción de los organismos e interacciones de sus metabolitos sobre el tóxico (Peltier y Weber, 1985).

Las ventajas y desventajas de los bioensayos estáticos y estáticos con renovación (Peltier y Weber, 1985; APHA *et al.*, 1985; Buikema, *et al.*, 1982) son:

ESTATICOS.

Ventajas:

- 1.- Realización sencilla.
- 2.- Bajos costos efectivos.
- 3.- Requerimiento limitado de recursos (como son espacio y tiempo), lo que permite el diseñar pruebas en secuencia o el coleccionar muestras al mismo

Desventajas:

- 1.- Los resultados no reflejan cambios temporales en la toxicidad del efluente.
- 2.- La concentración del oxígeno disuelto puede verse disminuida como resultado de una alta demanda química

tiempo.

4.- Requiere poco volúmen de tóxico o efluente (de uno a veinte litros).

5.- Permite medir la persistencia de la toxicidad, sobre todo en las pruebas no renovables.

6.- Puede ser usada con mezclas multifásicas (aceites, sólidos suspendidos).

7.- La disposición del desecho genera problemas mínimos.

o bioquímica de oxígeno.

3.- Es posible la pérdida del tóxico a través de la volatilización y/o adsorción en las paredes de los recipientes de prueba.

4.- Generalmente es menos sensible que la prueba de flujo continuo, porque las sustancias tóxicas se pueden degradar o ser adsorbidas, reduciendo la toxicidad aparente.

5.- Únicamente se utilizan organismos de ambientes lénticos.

ESTATICOS CON RENOVACION.

Ventajas.

- 1.- Simplicidad.
- 2.- Facilidad de operación.
- 3.- Requerimientos mínimos de espacio.
- 4.- Puede ser usado con mezclas multifásicas, o químicos que fácilmente se pueden perder de la solución por destoxificación.
- 5.- Genera poco volumen de desechos.
- 6.- Útiles en pruebas umbrales

Desventajas.

- 1.- La solución de prueba debe ser cambiada.
- 2.- Los organismos pueden ser alterados por el manejo.
- 3.- Solo pueden ser usados organismos de ambientes lénticos.

para efluentes.

7.- Propicia una mejor estimación de la toxicidad.

Pruebas de flujo continuo. Comúnmente se usan dos variantes en las pruebas de flujo continuo: 1) el efluente es bombeado continuamente en forma directa desde el punto de muestreo al sistema de dilución; y 2) se colectan periódicamente muestras del efluente las cuales se colocan en un tanque adyacente al laboratorio de prueba de donde bombea constantemente hacia el sistema de dilución. El método primeramente mencionado es el preferido cuando las pruebas se realizan cerca de las descargas. Estas pruebas utilizan grandes volúmenes de efluentes (generalmente 400 l/día), Esto aumenta considerablemente los costos y hace impráctico el realizarlas lejos de los sitios de descarga.

FLUJO CONTINUO.

Ventajas.

- 1.- Proporciona una evaluación más representativa de la toxicidad aguda del efluente, especialmente si esta varía con el tiempo.
- 2.- Se mantienen fácilmente

Desventajas.

- 1.- Se requiere de grandes volúmenes de efluente y agua de dilución.
- 2.- El equipo es más complejo y caro, requiriendo mayor atención y mantenimiento

las concentraciones adecuadas de oxígeno disuelto.

3.- Se puede utilizar una mayor densidad de carga.

4.- La posibilidad de pérdida de tóxico debida a la volatilización, adsorción y absorción se reduce sustancialmente.

5.- Pueden usarse organismos de ambientes lenticos.

6.- Adecuada para probar químicos con alta demanda de oxígeno.

7.- Adecuada para pruebas de larga duración (pruebas crónicas).

3.- Se requiere de mayor espacio para conducir las pruebas.

4.- No permite evaluar los efectos del envejecimiento del efluente sobre la toxicidad.

5.- Debido a los requerimientos, se hace muy difícil el diseñar secuencias de pruebas múltiples ó traslapadas.

6.- Crea problemas de disposición de desechos tóxicos

1.4-DESCRIPCION DE LA ESPECIE DE PRUEBA.

Girardinichthys multiradiatus. La familia de los goodeidos esta comprendida por organismos dulceacuícolas vivíparos de pequeño tamaño siendo endémicos de la República Mexicana y su origen y distribución están estrechamente relacionados con la evolución geomorfológica de la meseta central.

Los goodeidos no pueblan toda la República, tienen fronteras hasta la fecha infranqueables, tanto al norte como al sur, por lo

que sus dominios se extienden en la mesa central abarcando los cauces de dos importantes ríos, el Lerma y el Santiago, así como las cuencas cerradas de Pátzcuaro, Zirahuén y Cuitzeo. Un número menor de especies habitan el río Pánuco, una sola ocupa el sistema hidráulico del Balsas y otra más la Cuenca de México.

En cuanto al origen de la familia no existe teoría totalmente aceptada, pero la hipótesis más factible es la expresada por Alvarez del Villar (1972), quien propone que a fines del Mesozoico o principios del Terciario la región donde actualmente se encuentra la Cuenca de México estuvo bañada por aguas del Atlántico y es lógico suponer que con la elevación continental se hayan generado lagunas habitadas, como muchas otras del Golfo de México por ciprinodóntidos y atherinidos, entre otros peces.

Al continuar la elevación y posiblemente como consecuencia del vulcanismo, lo que ahora es la Cuenca de México se aísla del mar conservando su fauna peculiar; con el paso del tiempo esas aguas perdieron salinidad y se encuentran en ellas solo aquellos peces que pudieron soportar la transformación ecológica, es decir algún goodeido ancestral como producto evolutivo de los ciprinodóntidos y los atherinidos representados por *Chirostoma*.

Existen evidencias que la Cuenca de México estuvo ocupada por una laguna de aguas templadas o frías, que en algún momento del

Plioceno o Pleistoceno rompió sus barreras y descargó sus aguas hacia occidente y contribuyó a la dispersión de estos goodeidos primitivos, que al invadir nuevos habitats se diversificaron a nivel específico y genérico.

Las particularidades tanto de origen, evolución y adaptaciones reproductivas de los goodeidos han hecho de esta familia un grupo interesante para ictiólogos nacionales y extranjeros desde principios del presente siglo, cuyos estudios han tenido el objetivo de esclarecer problemas taxonómicos, biológicos y ecológicos (Soto *et al.*, 1990).

Estos peces pertenecen al orden de los Cyprinodontiformes, superfamilia Poecilioidea, y Familia Goodeidae, comunmente conocida como goodeidos o placentarios, (Taylor, 1982).

La familia Goodeidae comprende cuatro subfamilias: Ataeniobinae (una especie), Goodeinae (25 especies), Characodontinae (dos especies) y Girardinichthyinae (10 especies), esta división fué propuesta por Hubbs y Turner, (1939) y actualmente es válida. Esta clasificación considera ciertos caracteres con alguna tendencia evolutiva e incluso determina relaciones filogenéticas entre sus integrantes; de los aspectos que toman en cuenta sobresalen el septo ovárico, la trofotenia y algunos trabajos recientes involucran aspectos más finos como el cariotipo y los canales sensoriales cefálicos. (Godínez, 1991).

Características Específicas. *Girardinichthys multiradiatus.*

Los individuos de esta especie presentan las siguientes dimensiones tanto para hembra como para machos respectivamente; 50.28 y 36.02 mm. de longitud máxima, aunque se han encontrado organismos que llegan a alcanzar los 64.51 y 51.35 mm. de longitud total respectivamente. Posee dientes bifidos, la altura máxima del cuerpo es de 2.7 a 3.7 veces la longitud cefálica y poco menos de 1/4 de la longitud patrón. La altura mínima del pedúnculo, poco menos a dos veces la longitud cefálica y esta a su vez 3.8 veces en la estandar. El diámetro del ojo es 3.5 veces y la distancia interocular 3 veces en la longitud cefálica.

El origen de la aleta dorsal se encuentra en la mitad anterior de la longitud total. Las aletas anal y dorsal poseen de 26 a 36 radios y existe en la serie longitudinal de 25 a 35 escamas.

La coloración del cuerpo va del gris al verde claro con barras oscuras y presentan además una mancha negra por delante y arriba del origen de la aleta anal, los machos son un poco más oscuros y muestra coloraciones vivas en las aletas dorsales y anales, dicha coloración va del amarillo claro al naranja. En época de celo el borde de estas aletas se torna negro, permaneciendo el interior con los colores ya mencionados.

El ováριο se encuentra dividido completamente en dos cámaras por un septo recto completo y carente de tejido ovigero, este está restringido a un par de procesos, uno en cada cámara, adherido a la región dorsal de la pared ovárica. La trofotenia tiene consistentemente cuatro procesos rectales, dos pequeños anteriores y dos mayores posteriores (Alvarez del Villar, 1972).

Aspectos ecológicos. Se le encuentra en ambientes de aguas lénticas, templadas con temperaturas de 13 a 19 °C, el pH oscila de 6.8 a 8.4 y la dureza es de 40 a 98 ppm. por lo tanto estas aguas son consideradas como blandas a moderadamente duras, por Boyd (1979).

Su habitat comprende los cuerpos acuáticos entre los 2550 y 2690 msnm., con aguas claras a moderadamente turbias, manteniendo una concentración de oxígeno disuelto de 2.4 a 10.6 ppm.; el sustrato es de lodo compacto y suave, con vegetación circundante y con vegetación emergente y/o flotante.

Los niveles de nutrientes de los cuerpos de agua en los cuales habita *G. multiradiatus* se caracterizan por encontrar nitratos 30; fosfatos 3.2 y sulfatos 1 a 53 ppm.

Distribución. Se cuenta con un registro en 21 localidades distribuidas en casi toda la subcuenca del Lerma, desde sus orígenes en el estado de México hasta Maravatio de Ocampo,

Michoacán; actualmente se encuentra en solo cinco localidades entre los 2500 y 2690 msnm., que corresponden a las porciones más altas y a la central de la subcuenca, es decir a las localidades 1) Ciénega o lago de Lerma, 2) Parque Sierra Morelos, 3) Presa Ignacio Ramírez, 4) kilómetro 97-98 carretera México-Guadalajara y 5) en la laguna o represa cerca de San Felipe del Progreso (Chávez-Toledo, 1987).

1.5-DESCRIPCION DE LA ZONA DE COLECTA.

(En base a las cartas de D.E.T.E.N.A.L., 1966).

Ubicación. La zona de colecta se encuentra en la intersección de las siguientes coordenadas; longitud $99^{\circ}23'$ N y latitud, $19^{\circ}18'$ O ; altitud 3000 msnm. La laguna se llama Salazar y se encuentra al Este del poblado del mismo nombre en el Estado de México, al Sureste de la vía del ferrocarril México-Toluca (estación Salazar) y al Norte del km 15 de la carretera federal México-Toluca, a dos kilómetros de La Marquesa, Méx. (Carta Topográfica, 1986).

Geología. La zona subyacente y adyacente a la laguna Salazar

se encuentra constituida por rocas ígneas del tipo toba volcánica (Carta Geológica, 1986). El tipo de suelo característico de esta zona es "Th" andosol húmico clase de textura mediana en los 30 cm. superficiales del suelo (Carta Edafológica).

Capacidad de uso de suelo. "SAF2CT", se refiere a una unidad de quinta clase, por presentar suelo ácido (SA), segunda clase por fijación de fósforo (F2), también presenta pendientes con deficiencia de agua. En cuanto a la capacidad agrícola existe; 1) fijación de fósforo, 2) acidez, 3) normal salinidad sódica, 4) susceptibilidad media a la erosión (debida a erosión hídrica laminar), 5) no existe pérdidas de cosechas por inundación, 6) 3% de pendientes, 7) escasa obstrucción por piedras y/o rocas para labores agrícolas mecanizadas (0-5%), 8) buen drenaje interno, 9) profundidad del suelo 100 cm. (Carta Uso potencial del suelo, 1986).

Clima. El datos de tipo de clima son tomados de la estación meteorológica " La Marquesa " México, Cb'(w2)(w)(w)ig, clima semifrío con verano fresco largo, temperatura media mensual entre 5 y 12^o, la oscilación anual de las temperaturas medias mensuales menores de 5^o, se considera isotermal, marcha de la temperatura tipo ganges, (García, 1988).

Vegetación. la vegetación original de la zona corresponde al tipo boscoso, predominando el Oyamel (*Abies sp.*) y Pinos (*Pinus*

sp.), en donde estos bosques han sido talados para dedicar los terrenos a la agricultura de temporal o pastizales inducidos (García, 1980).

Dimensiones de la Laguna. varían con la estación del año abarcando de 2 a 6 km. de diámetro, profundidad no determinada, efluente intermitente regido por caudal de Río la Marquesa, el efluente esta regulado por represa, el almacenamiento es por medio de presa. Las características físico químicas del cuerpo de agua evaluadas en el presente trabajo son;

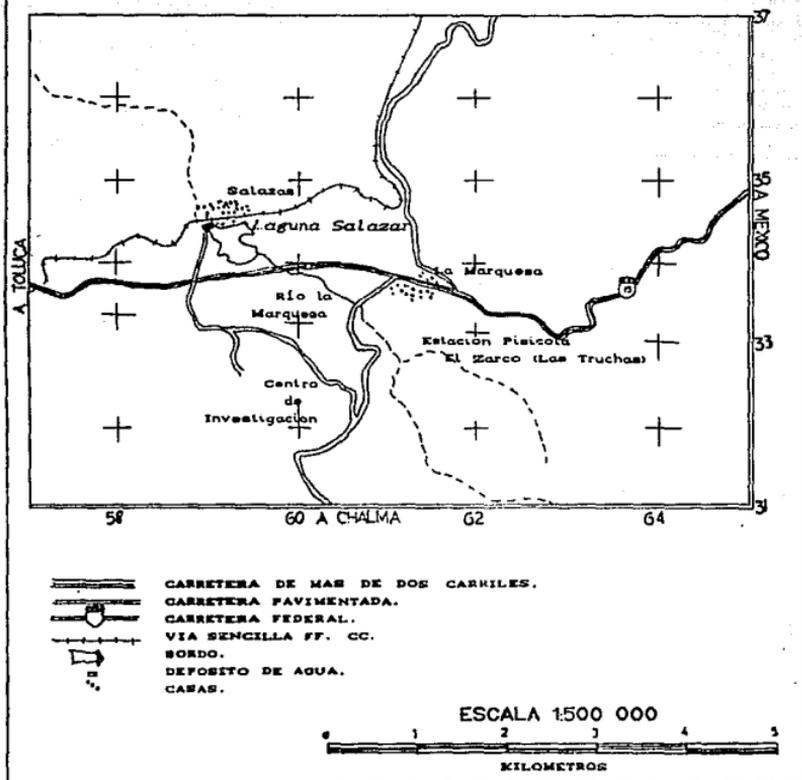
Temperatura.- 15 a 18 °C.

Oxig. dis .- 5 a 6 mg/l

pH.- 7 a 8

Amonio .- N. D. (no detectado).

UBICACION DE LA ZONA DE COLECTA DE LA ESPECIE DE PRUEBA.



2.-JUSTIFICACION.

En México existe una gran contaminación de los recursos hidrológicos, debido al creciente desarrollo industrial que se ha venido manifestando en las ultimas décadas, aunado a esto la falta de conciencia y conocimientos sobre los efectos que provocan en los ambientes acuáticos, ha ocasionado el deterioro de estos importantes ecosistemas. Por ello se ve la necesidad de determinar el grado de contaminación existente en los cuerpos de agua y el efecto que esta produce en los ecosistemas acuáticos.

Existen varias formas de evaluar el grado de contaminación del agua, como es el análisis de la calidad del agua, pero con ello sólo se indica el número y la cantidad de cada uno de los contaminantes, presentes en el agua y no el efecto que cada uno de estos, o todos a la vez, producirán sobre los organismos que habitan las aguas que reciben estos desechos. La manera de determinar la susceptibilidad de las especies acuáticas a estos contaminantes es el bioensayo.

Los bioensayos consisten en exponer a la acción de un tóxico o mezcla de ellos a organismos propios de las aguas que recibirán o reciben dichos tóxicos y al determinar la respuesta, se podrán establecer criterios de calidad de agua, para así minimizar el

riesgo de afectar el ecosistema acuático.

En las guías de procedimiento de bioensayos se establecen los requisitos que una especie debe de cumplir para ser usada como organismo de prueba (APHA *et al.*, 1985; Peltier y Weber, 1985; Horning y Weber, 1985). Dentro de éstas se establece que las especies deben ser autóctonas y de fácil obtención durante cualquier época del año, así como también deben ser de importancia regional. En los estudios realizados actualmente se utilizan especies introducidas que aunque importantes, no son representativas de nuestros cuerpos de agua, por lo que en el presente trabajo se determinará la susceptibilidad de una especie ictica endémica a diferentes tóxicos

3.- ANTECEDENTES.

Las pruebas de toxicidad se han venido utilizado desde tiempos remotos, pero sin darles un carácter cuantitativo. Tal como es el caso de la realizada por Aristóteles en la que colocó animales dulceacuícolas en agua de mar y observó sus respuestas. No fué sino hasta 1800 cuando se estableció una disciplina formal conocida como toxicología, en respuesta al desarrollo de la química, donde el hombre sintetizaba químicos y probaba sus efectos reconociendo los beneficios o inconvenientes de las sustancias, drogas o venenos. La posibilidad de que los materiales produjeran efectos sobre los organismos fué reconocida hasta la década de los 40's y 50's, donde los posibles efectos de químicos y desechos sobre los organismos fué dirigida sobre los peces de interés comercial. Por este tiempo, los científicos observaron diferencias marcadas entre grupos de organismos que vivían en ambientes acuáticos y que recibían desechos domésticos e industriales, en comparación con aquellos que no los recibían. La observación de los cambios producidos por esta actividad en los ambientes acuáticos condujeron a la formulación de estrategias de manejo de los desechos, en la cual se estimaba el daño producido en las poblaciones de organismos de los cuerpos de agua ya contaminados para poder predecir los efectos que tales desechos causarían en

otros cuerpos no contaminados. Buikema *et al.*, en 1982, establecen la utilidad de la exposición experimental de peces a desechos industriales para predecir el efecto y daño potencial a una corriente receptora antes de que ocurra la descarga.

En los últimos años no se ha modificado sustancialmente el marco teórico establecido por Buikema *et al.* (1982) pero se ha confirmado y ampliado la utilidad de las pruebas de toxicidad en el monitoreo. El conocimiento de químicos específicos, animales y procedimientos de prueba han aumentado, así como el número de técnicas de pruebas usadas para conocer la respuesta aguda.

Actualmente existen metodologías aprobadas en varios países, y que se toman como procedimientos estandarizados en otras naciones, este es el caso de la Agencia de Protección Ambiental de los E. E. U. U. (U. S. EPA.,1985), (Peltier y Weber, 1985; Horning y Weber, 1985). Esta agencia tendrá la responsabilidad de evaluar los efectos potenciales de las sustancias químicas descargadas al ambiente y desarrollar criterios de calidad de agua, observando que no afecten a los procesos biológicos en los diferentes tipos de aguas de recepción. Aún más, todas las pruebas con carácter legal en Estados Unidos deben de realizarse siguiendo normas indicadas por la U. S. EPA.,(1985). El primer criterio de calidad de agua en ese país fué publicado en 1980, (Voyer y Heltshe, 1989).

Procedimientos similares se han publicado en los "Métodos estandarizados para el análisis de aguas y aguas residuales" (APHA *et al.*,1985; Alabaster 1980; Sprague 1969,1970,1971). Esto en lo que se refiere a los Estados Unidos de Norteamérica.

En la República Mexicana La "Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente" (publicado en el Diario Oficial en enero 1988), faculta a la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (SEDUE), hoy nombrada Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL) para formular los criterios ecológicos (publicado en el Diario Oficial 13 de diciembre de 1989) que deberán observarse en la aplicación de la política general de ecología y que, uno de los asuntos que le otorga especial atención dentro de dicha política, es el aprovechamiento racional, la prevención y control de la contaminación del agua.

3.1-TOXICOS DE REFERENCIA.

Un toxico de referencia es aquel compuesto químico que por haber sido ampliamente utilizado en pruebas de toxicidad se conoce su manera de acción sobre los organismos, para predecir la forma en que los afectará, ya que sus respuestas serán similares

en la mayoría de los casos. Fogels y Sprague, (1977) explica que existen seis criterios para considerar a un compuesto como tóxico de referencia: 1) debe existir letalidad en bajas concentraciones; 2) debe ser fácilmente analizado en su concentración real en el agua de prueba; 3) disponible en forma pura; 4) alta solubilidad en agua; 5) si es ácido ó base orgánico, debe poseer un pKa menor en una unidad al intervalo de pH esperado de las aguas de prueba; 6) debe tener sitio conocido de acción en peces, así como ser de efecto tóxico universal.

La descripción de los tóxicos de referencia a utilizar en este trabajo, se da a continuación:

Cadmio. El Cadmio es encontrado en la naturaleza, generalmente en bajas concentraciones asociado con un metal similar, el Zinc. Es un metal suave de color azul-plateado, poco alterable al aire, en el que, calentado, arde y da humos pardos de Oxido de cadmio. Es menos soluble en los ácidos Clorhídrico y Sulfúrico que el Zinc. Se encuentra como capa anticorrosiva en tornillos y clavos, se presenta como una impureza en el galvanizado de Zinc (0.03%), y es usado en pinturas, pigmentos, plásticos y neumáticos (Sitting, 1976).

El peligro de daño obedece principalmente a que este metal actúa sinérgicamente con muchos contaminantes, el Cadmio provoca lesiones en riñón, atrofia testicular, aumenta la tensión sanguínea, fomenta la caries, etc. Es particularmente dañino por su prolongada capacidad de almacenamiento, ocasionando reducción de la vida del portador. Desafortunadamente se desconoce información sobre los efectos metabólicos del Cadmio sobre los humanos, sin embargo se especula que el Cadmio puede reemplazar al Zinc en varios procesos fisiológicos en el cuerpo resultando en disfunciones metabólicas. El cuerpo humano aparentemente no diferencia entre el Zinc y el Cadmio, asimilándolo de la misma forma cuando está presente, sin embargo el Zinc es un elemento esencial para las funciones humanas en cambio el Cadmio aparece como tóxico.

Estudios médicos han mostrado que el envenenamiento por Cadmio provoca vómitos severos cuando la dosis excede 15 mg. En ambientes acuáticos naturales las concentraciones de Cadmio no llegan a ser tan altas por lo que no se consideran como un riesgo para la salud (Waite, 1984).

Se sospecha que es el causante de la enfermedad del "itai-itai" (ouch-ouch), del Japón, la cual aparece en mujeres entre los 50-60 años de edad, y es caracterizada por dolores en las articulaciones y huesos, debido a que se presenta un mayor

número de casos de esta enfermedad en lugares donde este metal se encuentra muy difundido.

La contaminación del agua por Cadmio obedece al vertido del agua industrial residual (Spieser, 1980). En estudios de Cadmio, usualmente como $CdCl_2$, se ha concluido que los peces acumulan el tóxico a través del alimento; así como también del ambiente debido a su alta solubilidad en agua y su acumulación en el zooplancton, (Hatakeyama y Yasumo, 1982). También se sabe que la toxicidad de Cadmio a organismos acuáticos varía extremadamente dependiendo principalmente de la formación de complejos y reacciones de adsorción, involucrando: pH, dureza, alcalinidad y sustancias orgánicas. El ión libre, Cd^{+2} [$Cd(H_2O)_n^{+2}$], es la especie más tóxica para organismos acuáticos, y los complejos formados por Cadmio son en menor grado (Buckley *et al.*, 1985). Calamari *et al.*, en 1979, comprueba que la toxicidad aguda de Cadmio en *Salmo gairdneri* es incrementada por reducción de la dureza del agua. En esta prueba se ensayaron aguas duras del orden de 320, 80 y 20 mg/l con $CaCO_3$ a un pH= 7.2.

tabla No. 1.- Concentraciones letales medias (CL_{50} 's) para Cadmio, con diferentes especies de peces.

especie	tiempo	CL_{50}	Referencia
<i>Carassius auratus</i>	48 h.	2.76 mg/L	Spehar (1979)
<i>Carassius auratus</i>	96 h.	2.13 mg/L	Spehar (1979)
<i>Carassius auratus</i>	240 h.	1.78 mg/l	Spehar (1979)
<i>Carassius auratus</i>	48 h.	46.9 mg/l	Spehar (1979)
<i>Carassius auratus</i>	96 h.	46.8 mg/l	Spehar (1979)
<i>Carassius auratus</i>	240 h.	40.2 mg/l	Spehar (1979)
<i>O. tschawytscha</i>	96 h.	1-27 μ g/l	Murphy (1981)
<i>Carassius auratus</i>	48 h.	5-10 mg/l	Spehar (1980)
<i>Carassius auratus</i>	96 h.	12.6 mg/l	Spehar (1981)
<i>Salmo gairdneri</i>	96 h.	19-25 mg/l	Murphy (1982)
<i>Brachydanio rerio</i>	96 h.	1.7 mg/l	Spehar (1982)
<i>Salvelinus fontinalis</i>	96 h.	5080 μ g/l	Phipps (1984)
Salmon del Atlantico	48 h.	24-118 μ g/l	Roush (1985)
<i>Barbus conchontus</i>	96 h.	78.000 μ g/l	Pickering (1989)
<i>Barbus arulius</i>	96 h.	39,000 μ g/l	Pickering (1989)
<i>Salmo gairdneri</i>	25 días	10 μ g/l	Pickering (1989)

Recopilación del Journal Water Pollution Control Federation 1979; 1980; 1981; 1982; 1983; 1984; 1985; 1986; 1987; 1988; 1989)

Se ha encontrado que las CL_{50} 's a las 96 h de Cadmio en especies como *Fundulus heteroclitus*, *Noemacheilus barbatus*, *Jordanella floridae* y *Carassius auratus* son del orden de 1 a 10 mg/l. Para salmónidos generalmente las CL_{50} 's a 96 h ocurre por debajo de 1 μ g/l (Majewski y Giles, 1981). Eaton et al, en 1978 investiga la toxicidad del Cadmio a embriones y larvas de siete diferentes especies de peces. Concluyendo que las fases embrionarias en general son más sensibles. Algunos efectos fisiológicos producidos en peces por Cadmio en exposiciones a concentraciones subletales son: -Alteraciones en reproducción y desarrollo de *Salvelinus fontinalis*, en concentraciones de 3.4 μ g/l (Benoit et al., 1979). -Induce incrementos en ventilación, ritmos cardiacos, hematocritos y hemoglobina, en *Salmo gairdneri*, a concentraciones de 6.4 μ g/l (Majewski y Giles, 1981). Muramoto en 1981 comprueba que existen malformaciones en peces, encuentra que en *Cyprinus carpio* expuestos a 0.01, 0.05, y 0.1 ppm. de Cadmio, ocurren alteraciones en columna vertebral y disminución de Calcio en las víceras y branquias de peces respecto al control. En estudios más detallados con *Ictalurus nebulosus*, expuestos a concentraciones de 61.3 mg/l de $CdCl_2$ por dos horas, los resultados obtenidos indican que el Cadmio en altas concentraciones afecta inmediatamente el sistema circulatorio periférico y al riñón. La respuesta del primero se observa como baja de células rojas sanguíneas y un incremento en el total de células blancas (Garofano y Henry, 1982).

Dodesil sulfato de sodio ó Lauril sulfato de sodio.(SDS)

Usado como componente de los dentríficos comerciales y algunos detergentes caseros, tiene acción tóxica para los peces; biológicamente se degrada con facilidad, pero produce daños por su acción tensoactiva, destruyendo las capas protectoras de mucus, anulando las funciones de los epitelios de las branquias, a esto se le agrega un efecto hemolítico. Los peces alterados por los detergentes presentan con frecuencia inflamaciones en las branquias, hemorragias, decoloración y cuando la acción es prolongada se produce la acumulación de la sustancia en la piel.

Tatem *et al.* en 1976 concluyen que los peces marinos son más susceptibles que los crustáceos, y reporta que las concentraciones de toxicidad del Dodesil sulfato de sodio ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{-OSO}_2\text{Na}$) para peces se localizan en el intervalo de 0.4-40.0 ppm. Mann 1955 (en Spieser, 1985), determino que el valor de la toxicidad del SDS para carpa es de 28-32 mg/l. Tovell *et al.* (1973), prueba el efecto de la dureza del agua en la toxicidad de un detergente aniónico con peces, concluyendo que la toxicidad del SDS, en solución, varia considerablemente con la dureza del agua en la cual los organismos juveniles son expuestos. *Salmo gairdneri* y *Carassius auratus*, son más susceptibles al SDS en agua dura que en agua blanda, y el intervalo de absorción de detergentes es también alto en agua dura. *Salmo gairdneri* (juveniles) con agua dura (dureza total de 300 ppm. como CaCO_3 ,

pH=6.8 a 7.2, temperatura= 12 ± 1 °C) y 70 ppm. de SDS mueren a los 40-45 minutos, mientras que los ensayados con agua blanda (60 ppm.) y 70 ppm de tóxico mueren después de 3h. *Carassius auratus*, con las mismas condiciones de prueba con agua dura mueren de los 90-110 minutos y los ensayados con agua blanda sobreviven a las 24h. Fogels y Sprague en 1977 comparan el efecto agudo del Dodecil sulfato de sodio para tres especies de peces, *Brachydanio rerio*, *Jordanella floridae* y *Salmo gairdneri*, encontrando que las CL₅₀'s a las 96 h. son: 7.96, 8.10, 4.62 mg/l. respectivamente. Abel y Skidmore en 1975, investigan los efectos tóxicos de un detergente aniónico en las branquias de trucha arcoiris (*Salmo gairdneri*), expuestos a 100 mg/l de SDS determinando que se presenta reacción inflamatoria del epitelio y desprendimiento irradiado de los linfocitos y granulocitos de los espacios subepiteliales.

Cromo Hexavalente. Se ha utilizado como tóxico de referencia en varios países como son la Comunidad Europea y los Estados Unidos (Muller, 1980). Se ha reportado que los síntomas de trastorno de los peces a este compuesto se presentan como daño de los epitelios provocando la irritación de las mucosas tanto externas como internas (boca e intestino), con subsiguiente alteración de los movimientos de desplazamiento. La penetración del tóxico va a través de la superficie externa de los peces hasta los órganos internos, donde deja sentir sus efectos. La toxicidad

del Cromo se reduce ante la presencia de los iones Calcio y Magnesio que son los responsables de la dureza de las aguas; este efecto puede deberse a la interacción de estos iones con el Cromo hexavalente. El mismo efecto se produce al aumentar la alcalinidad, que es una función del valor del pH. Los siguientes valores se han reportado para Cromo:

Tabla No. 2.- Características letales medias (CL₅₀'s) para Cromo, con diferentes especies de peces.

especie	tiempo	CL ₅₀	referencia
<i>Carassius auratus</i>	24 h	109-354 mg/l	Spehar (1979)
<i>Salmo gairdneri</i>	24 h	59-141 mg/l	Spehar (1979)
<i>Ichtaurus punctatus</i>	24 h	50-72 mg/l	Spehar (1979)
<i>Pimephales promelas</i>	96 h	36.2 mg/l	Spehar (1981)
<i>Pimephales promelas</i>	96 h	3.9 mg/l	Spehar (1981)
<i>Brachydanio rerio</i>	96 h	58.5 mg/l	Spehar (1982)
<i>Channa punctatus</i>	96 h	45.2 mg/l	Phipps (1984)

Recopilación del Journal Water Pollution Control Federation (1979; 1980; 1981; 1982; 1983; 1984).

4.-OBJETIVOS.

4.1-OBJETIVO GENERAL.

Establecer las condiciones generales para el cultivo en laboratorio de una especie de pez adecuada para pruebas de toxicidad y el monitoreo biológico de contaminación, determinando su sensibilidad mediante pruebas de toxicidad aguda.

4.2-OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Establecer la alimentación más adecuada en laboratorio para la especie de prueba.
- Conocer la reproducción y fecundidad de la especie.
- Adecuar las condiciones de laboratorio para su mantenimiento y reproducción.
- Determinar las concentraciones letales medias (CL_{50}), para los tóxicos: Cadmio, Cromo y Dodecil sulfato de sodio.
- Obtención de las curvas de toxicidad para los diferentes tóxicos propuestos.
- Comparar los resultados obtenidos con otros resultados bibliográficos para los mismos tóxicos, y para una especie de referencia (*Daphnia magna*).

5.1-METODOLOGIA.

Esta se dividió en los siguientes puntos:

- 5.1) Selección de la especie de prueba.
- 5.2) Colecta y transporte.
- 5.3) Preaclimatación y aclimatación formal.
- 5.4) Reproducción y obtención de juveniles.
- 5.5) Procedimiento de pruebas de toxicidad.

5.1 Selección de la especie de prueba. Los peces de ensayo deberán ser adaptables a las condiciones de laboratorio en lo relativo a temperatura, alimentación, manejo, etc. Uno de los principales factores que deciden sobre la selección de una especie es la disponibilidad de una fuente de organismos saludables y uniformes, así como de tamaño conveniente, ya sea de poblaciones silvestres o cultivadas.

En la literatura se presentan datos sobre las especies que se han empleado con éxito, aunque se recomienda el preferir las especies de peces que sean de importancia local (Peltier y Weber, 1985).

Características a tomar en cuenta en la selección de la especie son:

- La sensibilidad de la especie al material o factores ambientales bajo consideración.
- Su distribución geográfica, abundancia y disponibilidad a través del año.

- Su importancia económica, ecológica, local y nacional.
- La disponibilidad de métodos de cultivo en laboratorio, el conocimiento de sus hábitos alimenticios y requerimientos ambientales.
- La disponibilidad de los organismos libres de parásitos y enfermedades.
- El tamaño de los organismos no debe ser mayor de 5cm.
- Se prefieren organismos vivíparos.
- De preferencia el ciclo de vida de los organismos de prueba será corto.

Con base en lo anterior se realizó una investigación bibliográfica sobre las especies de peces representativas del Valle de México y zonas cercanas, para determinar las posibles especies autóctonas a usar como organismos de prueba.

5.2 Colecta y transporte. Una vez seleccionada la especie de prueba se efectuarán varias salidas al campo para coleccionar organismos. Antes de la colecta se tomaron muestras del cuerpo de agua para caracterizarlo, determinando los parámetros de campo siguientes; pH [Aquamerck 11100. Método; determinación colorimétrica con el reactivo DPD (N,N-Dietil-p-Fenilendiamina y el indicador rojo de fenol)], oxígeno, consumo de oxígeno [Aquamerck 11149. Método; Valoración según Winkler], Amonio, Nitritos, Nitratos [Aquamerck 11117. Método; Colorimétrico con Nessler's], Alcalinidad [Aquamerck 11109. Método; Valoración acidimétrica, frente a un indicador mixto y/o fenolftaleína], Temperatura toma directa.

la colecta se realizó con un chinchorro playero de luz de

malla 0.5 cm, por 3 metros de largo y 1 metro de ancho. Los organismos extraídos se colocaron en bolsas de plástico (40X60 cm), aplicando oxígeno a presión y cerrándolas. Posteriormente se colocaron las bolsas en contenedores con hielo, para disminuir el metabolismo de los peces y el consumo de oxígeno. Una parte representativa de los organismos se fijó en formaldehído al 10%, para posteriormente determinar su contenido estomacal (Bennett, 1974). El transporte se efectuó inmediatamente del lugar de colecta al laboratorio.

5.3 Preaclimatación. En laboratorio se introdujeron las bolsas de plástico en un recipiente lo suficientemente grande con agua a 25 °C, permitiendo el equilibrio de temperaturas de las bolsas y con la del recipiente y así minimizar el riesgo de un "shock" térmico. Al equilibrarse la temperatura, se colocaron los peces en un tanque de fibra de vidrio con capacidad de 600 l., conteniendo a todos los organismos colectados. El tanque fue provisto de termostatos y difusores de aire para mantener los niveles de oxígeno y temperatura adecuadamente.

Los peces muertos en este periodo se separaron y se fijaron en formol neutro al 10%, para una posterior observación.

Los organismos se mantuvieron aislados en el tanque para disminuir el "stress". Los peces permanecieron en estas condiciones durante 24 horas sin proporcionarles alimento.

Antes de poner los reproductores en los acuarios, se tomaron en cuenta las siguientes medidas preventivas: Se aplicó un tratamiento con Cloruro de sodio (NaCl), al 1.5%, durante 15 minutos; ó una solución de Permanganato de potasio (KMnO_4), de 5 mg/l, administrado por tres días consecutivos, para destruir los parásitos de la piel y las branquias y evitando así posibles infecciones posteriores (Arredondo, 1986; Curtis, 1979). Después del tratamiento, los peces se colocaron separados por sexos en acuarios de 30 l provistos de filtro biológico de piso, previamente acondicionados; se realizó un conteo y sexado.

La preparación de los acuarios se logró desinfectándolos con Hipoclorito de sodio (NaClO), 200 mg/l por espacio de un día. Después de esto se enjuagan con agua corriente y con una solución de Tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1 N, para eliminar los restos de cloro (Curtis, 1979; Horning y Weber, 1985). La gravilla que se uso se lavó y esterilizó en un autoclave a 15 lb/pulg² y 120 °C por 15 min. Después de esto se prepararon los acuarios con filtro de piso, colocando gravilla en cantidad suficiente para cubrirlos. Para establecer por medio del filtro un sistema de nitrificación - desnitrificación bacteriana, se introdujeron previamente en los acuarios algunos peces sanos y libres de parásitos, dejándolos 15 días. Estos se sacan una semana antes de introducir los peces a cultivar, a los cuales se les colocó a una densidad de carga de 20 peces por acuario, administrando alimento adecuado de acuerdo a los resultados obtenidos de los

análisis de contenido estomacal; el alimento se proporcionó una vez por día

5.4 Reproducción. Se indujo la reproducción para obtener juveniles. Esto se logró aumentando la temperatura y disminuyendo la densidad de carga de los acuarios a 12 organismos por acuario, manteniendo una proporción de dos hembras por cada macho. Las hembras permanecieron con los machos hasta que se determinaron preñadas visualmente. Cuando lo anterior ocurrió, Las hembras se colocaron con cuidado en acuarios acondicionados como maternidad.

Los organismos recién nacidos fueron extraídos y colocados en un acuario aparte, que contenía todas las camadas nacidas en el intervalo de una semana. Esto con el fin de mantener una homogeneidad en talla, peso y edad de los juveniles.

A los neonatos se les alimentó inmediatamente con *Notho sp.* recién nacida; en caso de no contar con este alimento, se les proporcionó nauplios de *Artemia sp.*

5.5 Procedimiento de pruebas de toxicidad aguda. Como cámaras de prueba se usaron recipientes plásticos de polipropileno, de capacidad total de 1200 ml (diámetro de 170 mm por 90 mm de profundidad). En los bioensayos de toxicidad aguda en laboratorio se determinaron los siguientes parámetros físico-químicos; temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad,

salinidad y amonio. Estos son reportados a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas, La temperatura se tomo directamente con un termómetro, el pH se determinó con un potenciómetro mod. 3D, Corning, el oxígeno por medio de un oxigenómetro, YSI, mod. 54A, conductividad y salinidad con un S-C-T-meter, YSI, mod 33, el amonio por el método del fenato, APHA, (1985).

Tóxicos de referencia. Como tóxico de referencia se utilizó el Cadmio (CdCl_2), Cromo hexavalente ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y Dodecil sulfato de sodio [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$], todos estos de grado reactivo analítico. En los dos primeros casos se preparó una solución "stock" de 100 mg/l, usando agua destilada como diluyente. Para el Dicromato de potasio, se utilizó una solución stock de 500 mg/l (Moraitou *et al.*, 1979; Iwama y Gree, 1979). Las concentraciones reportadas son concentraciones nominales.

Pruebas para determinar el intervalo de concentraciones.

La prueba delimitó el intervalo dentro del cual se encuentra la CL_{50} siendo una abreviación de la prueba formal de toxicidad. En el ensayo exploratorio se colocaron tres peces en un volumen de un litro de solución de prueba; esto se realizó por duplicado. La duración de la prueba dependió de los resultados obtenidos. El intervalo adecuado para la selección de concentraciones para la prueba formal cae entre la mayor concentración en que hayan sobrevivido todos los peces al cabo de 24 horas y la menor concentración en la que todos o casi todos los peces hayan perecido en el mismo periodo de tiempo.

Las concentraciones aplicadas de tóxicos, a partir de una solución stock:

TOXICO	concentración (mg/l).						
Cadmio	0.0	0.001	0.01	0.1	1.0	10	50
SDS	0.0	0.010	0.10	1.0	10	50	100
Cromo	0.0	50.0	100.0	150.0	175	200	250

Prueba de toxicidad aguda.

Con base a los resultados obtenidos en la prueba anterior se determinaron las concentraciones adecuadas para obtener las CL_{50} 's. y sus límites de confiabilidad al 95%. Las concentraciones ensayadas se basaron en las tablas logarítmicas recomendadas en APHA *et al.*, (1985). Estas pruebas se efectuaron en base al método descrito por U. S. EPA, (1985).

Los organismos sobrevivientes a todas las pruebas fueron sacrificados al término de las mismas.

5.6- Métodos para la estimación de la concentración letal. La determinación de la concentración letal media se efectuó mediante el método estadístico Probit; para Cromo y Dodecil sulfato de sodio, mientras que para Cadmio fué por el método de

Ángulos móviles (Horning y Weber, 1985; Peltier y Weber 1985; Finney, 1971).

Las curvas de toxicidad se obtuvieron mediante el método gráfico y ajuste analítico según U. S. EPA,(1985) y APHA et al,(1985).

6.-RESULTADOS.

Con base a los requerimientos establecidos para seleccionar una especie adecuada para realizar bioensayos, se seleccionó a *Girardinichthys multiradiatus* como organismo de prueba.

Con respecto al análisis de contenido estomacal en las figuras No.1 y 2 se observa el número de alimentos ingeridos por taxa y sexos, así como la proporción de cada uno de ellos a lo largo del estudio realizado.

En relación con los aspectos reproductivos el número promedio de embriones por hembra, son los siguientes:

Número de hembras observadas	191
Número de hembras preñadas	32
Porcentaje de hembras preñadas	16.75%
Promedio de embriones por hembra	40.375

Las distintas proporciones de sexos encontradas a lo largo del periodo de estudio y por colecta se muestran en el siguiente cuadro.

fecha	colecta	%machos	%hembras	mues tra.	%de org. no diferenciados
160789	1er colecta	10.4575	89.215	306	0.3267
101289	2da colecta	27.1523	68.874	259	3.9735
200590	3er colecta	50.0	50.0	266	0.0
111090	4ta colecta	33.076	48.974	390	17.94
151190	5ta colecta	37.5	62.5	260	0.0
190391	6ta colecta	88.0	12.0	215	0.0

Se encontró que para el establecimiento en laboratorio de la especie en estudio las siguientes condiciones fueron las más favorables:

Volúmen del acuario	40 litros
Filtro biológico	si
Aeración constante	si
Temperatura	19 a 24 °C.
Densidad de carga	1 pez X 2 litros de agua
pH	8.0
Amonio	<0.5 mg/litro.
Salinidad	0.0 ⁰ / ₀₀
Conductividad	360 a 370 µmohs.
Tipo de agua	Descolorada.
Fotoperíodo	12 luz:12 oscuridad

El comportamiento de los organismos en cautiverio en las condiciones particulares de los acuarios mencionados en los

párrafos anteriores es el siguiente: presentan hostilidad entre los organismos del mismo sexo pero no hacia los organismos del sexo opuesto. La agresividad se desencadena hacia ciertas áreas específicas del cuerpo como son, ojos, cabeza y aletas, aumentando esta cuando existe competencia por el alimento. Cuando la densidad es mayor de un pez por cuatro litros de agua la agresividad disminuye debido a que no pueden centrar su atención en un solo individuo. Lo mismo sucede cuando los peces permanecen juntos por espacios prolongados de tiempo, ya que se ha observado que se establecen jerarquias en donde el macho más fuerte y grande mantiene su dominio. El macho dominante acapara para sí la mayor parte de alimento y ocupa la mayor zona del acuario, por lo tanto la mayor parte de las hembras se aparearán con él.

Para fomentar la reproducción se mantuvieron las condiciones antes mencionadas con excepción de la temperatura y la densidad de carga, las cuales fueron de 25 a 26 °C. y de 3.3 litros por pez respectivamente. Durante el periodo reproductivo (que en estas condiciones se puede dar en varias ocasiones al año), se observó los siguientes eventos: al colocar hembras y machos en número de dos organismos por acuario en proporción de dos a uno. Se observó que los machos inician un cortejo que consiste en asediar a las hembras maduras; los machos despliegan las aletas dorsal y anal las cuales son de un color dorado de mucho mayor tamaño que la de las hembras en algunos casos con los bordes negros, al mismo tiempo que hacen lo anterior persiguen a la hembra escogida y

alejan a los otros machos de esta manera se va realizando una selección de machos, el macho más dominante del grupo permanece cerca de la hembra. Una vez que el macho a logrado apartar al resto se aproxima a la hembra que comienza a nadar lentamente. El macho se coloca en posición paralela a la hembra y ambos recorren el acuario vibrando simultaneamente. Las vibraciones siguen la dirección de cabeza a aleta caudal, durante esta "danza reproductiva", el macho intenta fecundar a la hembra acercando rápidamente los radios modificados de su aleta anal.

El tiempo de gestación al término del apareamiento es variable, siendo en promedio de 2.5 meses en laboratorio. La hembra próxima a "dar a luz" permanece en el fondo del acuario o cerca de la superficie, mostrando una aparente tranquilidad; esta se deja sola en el acuario para que se tranquilice y disminuir la pérdida de alevines después del nacimiento. En el momento de expulsar a los recién nacidos nada rápidamente por todo el acuario, dando fuertes aletazos con la cauda. Cuando expulsa a los alevines, estos caen al fondo del acuario en donde, por algunos segundos permanecen quietos, posteriormente empiezan a nadar libremente ya sea por el fondo o próximos a la superficie, agrupándose en las esquinas del acuario ó ocultándose atrás de los objetos que se encuentran dentro del mismo. Cuando la hembra se encuentra bien alimentada y tiene alimento accesible no molesta a los alevines pero cuando tiene hambre puede llegar a devorarlos; esto también pudiera suceder por "stress" de los organismos.

El tiempo en que se diferencian sexualmente es de dos a tres meses teniendo una talla de 25 a 30 mm.

En la parte toxicológica de este trabajo se realizaron cinco pruebas, de las cuales una fué preliminar, tres para la determinación de intervalo y una más para determinar la CL_{50} .

A continuación se listan los resultados en este orden:

1. Bioensayo preliminar. Esta prueba se efectuó para determinar si los organismos de prueba soportaban las condiciones de desarrollo del bioensayo.

Tabla No. 3. Condiciones de prueba en el bioensayo preliminar para *Girardinichthys multiradiatus*.

Tipo de prueba	Estática.
Contenedor de prueba	1200ml.
Vol. de sol de prueba	1000ml.
Edad de los org.	1 día de nacidos
Núm. de org. por contenedor	10
Réplicas	2
Org. por conc.	20
Aereación	no
Agua de dil.	agua desclorada.
Duración de la prueba	96horas

Tabla No. 4. Parámetros físico-químicos de la solución de prueba.

Parámetro		con alimento		sin alimento	
		inicial	final	inicial	final
Temperatura	°C	23	23	23	23
O. D.	mg/l	6.5	4.4	6.5	5.65
Conduct.	µmohs	360	NE	360	NE
Salinidad	°/oo	0.0	NE	0.0	NE
Amonio	mg/l	0.0	3.0	0.0	0.5

NE= no evaluado.

2. Bioensayo para la determinación de intervalo. En estos ensayos se determinaron los intervalos de concentraciones entre los cuales se debe de encontrar las CL_{50} 's, para los tóxicos. A continuación se proporcionan las tablas de las condiciones y resultados por dichas pruebas para Cromo Hexavalente (Dicromato de potasio), Dodecil sulfato de sodio (SDS) y Cadmio (Cloruro de cadmio), en este mismo orden.

Tabla No. 5. Condiciones de prueba para determinación de intervalo para *Girardinichthys multiradiatus* con Cromo Hexavalente.

Tipo de prueba	Estática.
Temperatura	23°C
Contenedor de prueba	1200ml.
Volumen de la sol. de prueba	1000ml
Edad de los org.	8días
No. org. por contenedor	3
Replicas	2
Org. por conc.	6
Alimentación	no.
Aireación	no.
Agua de dil.	agua desclorada.
Duración de la prueba	96hr.

Tabla No. 6. Parámetros físico-químicos inicial y final de la solución durante la prueba para la selección de intervalo con Cromo hexavalente.

Parámetro	Concentración						
	0.0	50	100	150	175	200	250
1	25-23	25-23	25-23	25-23	25-23	25-23	25-23
2	8.47-8.3	7.68-8.4	8.34-8.42	7.3-8.2	7.1-8.23	6.9-8.15	6.8-6.5
3	6.6-6.4	6.6-6.4	6.30-NE	6.7-6.5	6.5-6.4	6.6-6.6	6.5-6.4
4	370-NE	390-NE	NE-NE	370-NE	350-NE	390-NE	300-NE
5	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE
6	ND-NE	ND-DE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE

Tabla No. 7. Resultados obtenidos de mortalidades promedio para *Girardinichthys multiradiatus*, con Cromo Hexavalente.

Concentraciones (mg/l)	Mortalidad/horas						% Mortalidad final
	3	6	24	48	72	96	
0.0	0	0	0	0	0	0	0
50.0	0	0	0	0	0	0	0
100.0	0	0	0	0	0	0	0
150.0	0	0	0	0	1	0	16.0
175.0	0	0	0	0	0	3	50.0
200.0	0	0	1	1	1	2	83.3
250.0	0	0	0	1	0	5	100.0

Tabla No. 8. Condiciones de prueba para determinación de intervalo para *Girardinichthys multiradiatus* con Dodecil sulfato de sodio.

Tipo de prueba	Estática
Temperatura	22°C
Contenedor de prueba	1200ml
Vol. de sol. de Prueba	1000ml
Edad de los org.	8días
No. org. por contenedor	3
Réplicas	2
Org. por conc.	6
Alimentación	no
Aireación	no
Agua dil.	agua desclorada
Duración de la prueba	96hr

Tabla No. 9. Parámetros físico-químicos inicial y final de la solución durante la prueba para la selección de intervalo con Dodecil sulfato de sodio.

Parámetros	concentraciones						
	0.0	0.01	0.1	1.0	10.0	50.0	100.0
1	22-22.5	22-22.5	22-22.5	22-22.5	22-22.5	22-22.5	22-22.5
2	8.5-8.7	8.6-8.7	8.6-8.7	8.6-8.7	8.6-8.6	8.6-8.6	8.6-NE
3	6.3-6.0	6.2-6.0	6.3-6.0	6.1-5.1	6.2-6.0	6.2-6.2	6.1-NE
4	350-400	350-380	345-380	350-380	350-370	370-370	375-NE
5	ND-ND	ND-ND	ND-ND	ND-ND	ND-ND	ND-ND	ND-ND
6	0.0-<.5	0.0-<.5	0.0-<.5	0.0-<.5	0.0-<.5	0.0-<.5	0.0-<.5

Tabla No. 10. Resultados obtenidos de mortalidades, promedio para *Girardinichthys multiradiatus*, con Dodecil sulfato de sodio.

Concentraciones (mg/l)	Mortalidad/horas						% Mortalidad final
	3	6	24	48	72	96	
0.0	0	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0	0	0
1.00	0	0	0	0	0	0	0
10.00	0	0	0	0	0	0	0
50.00	3	3	-	-	-	-	100
100.00	6	-	-	-	-	-	100

Tabla No. 11. Condiciones de prueba para determinación de intervalo para *Girardinichthys multiradiatus* con Cadmio.

Tipo de prueba	Estática
Temperatura	23.5°C
Contenedor de prueba	1200ml
Vol. de sol. de prueba	1000ml
Edad de los org.	8 días
No. de org. por contenedor	3
Réplicas	2
Org. por conc.	6
Alimentación	no
Agua de dil.	Agua desclorada
Duración de la prueba	96hr

Tabla No. 12. Parámetros físico-químicos inicial y final de la solución durante la prueba para determinación de intervalo con Cadmio.

Parámetros	Concentraciones						
	0.0	0.001	0.01	0.1	1.0	10.0	50.0
1	23.5-25	23.5-25	23.5-25	23.5-25	23.5-23	23.5-25	23.5-25
2	8.7-8.6	8.7-8.6	8.7-8.6	8.7-8.6	8.7-8.6	8.6-8.6	7.9-8.2
3	6.3-5.7	6.0-5.4	6.1-5.4	6.2-5.2	6.1-5.4	6.1-6.0	6.1-5.8
4	380-385	380-384	365-370	365-360	365-372	370-377	370-365
5	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
6	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.5	ND-0.5	ND-1.0

Tabla No. 13. Resultados obtenidos de mortalidades promedio para *Girardinichthys multiradiatus*, con Cadmio.

Concentraciones (mg/l)	Mortalidad/horas						% Mortalidad final
	3	6	24	48	72	92	
0.0	0	0	0	0	0	0	0
0.001	0	0	0	0	0	0	0
0.010	0	0	0	0	1	0	16
0.100	0	0	0	0	1	0	16
1.000	0	0	0	5	1	-	100
10.000	0	0	2	4	-	-	100
50.000	0	0	1	4	1	-	100

3.- Bioensayo para obtener la Concentración letal media (CL_{50}) para la especie *Girardinichthys multiradiatus* con el tóxico Dodecil sulfato de sodio.

Tabla No. 14. Condiciones de prueba definitiva para la obtención de CL_{50} para *Girardinichthys multiradiatus*, con Dodecil sulfato de sodio.

Tipo de prueba	Estática
Temperatura	23.5°C
Contenedor de prueba	1200ml
vol. de sol. de prueba	1000ml
Edad de los org.	8 días
No. de org. por contenedor	5
Réplicas	3
Org por conc.	15
Alimentación	no
Aireación	no
Agua de dilución	agua desclorada
Duración de la prueba	96hr

Tabla No. 15. Parámetros físico-químicos inicial y final de la solución durante la prueba definitiva con Dodesil sulfato de sodio.

Parámetro	Concentración					
	0.0	10	20	30	40	50
1	23.5-25	23.5-25	23.5-25	23.5-25	23.5-25	23.5-25
2	8.6-8.6	8.6-8.4	8.6-8.4	8.6-8.0	8.6-NE	8.6-NE
3	6.1-5.6	6.2-5.3	6.2-5.5	6.2-5.3	6.2-NE	6.3-NE
4	380-NE	385-NE	390-NE	385-NE	395-NE	400-NE
5	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE	ND-NE
6	ND-.5	ND-.5	ND-.5	ND-.5	ND-NE	ND-NE

Anotaciones: (para las tablas de parámetros físico-químicos).

- | | |
|-----------------------------|---------------------------|
| 1.-Temperatura. (°C). | 2.-pH. |
| 3.-Oxígeno disuelto (mg/l). | 4.-Conductividad (µmhos). |
| 5.-Salinidad (°/oo). | 6.-Amonio (mg/l). |
| .-ND no detectado. | .-NE no efectuado. |

Tabla No. 16 Resultados obtenidos de mortalidades para *Girardinichthys multiradiatus*, con Dodesil sulfato de sodio.

Concentraciones (mg/l)	Mortalidad/horas						% Mortalidad final
	3	6	24	48	72	96	
0.0	0	0	0	0	0	1	6.6
10.0	0	0	0	1	0	0	6.6
20.0	0	0	1	0	0	1	13.3
30.0	0	0	14	0	0	0	93.3
40.0	0	6	9	-	-	-	100.0
50.0	15	-	-	-	-	-	100.00

De los resultados anteriores se calculó las CL_{50} 's y sus límites de confianza para los tóxicos, obteniéndose los siguientes resultados:

tóxico	tiempo de expo	CL_{50} (mg/l)	int. de conf. $p=0.05$	Método de cálculo
Cromo	96 h.	174.9847	± 7.05	Probit
SDS	96 h.	19.575	± 1.4	Probit
Cadmio	96 h.	0.080	Lim. sup. 0.3716 Lim. sup. 0.0055	Angulos móviles promedio

Curvas de toxicidad. A continuación se presentan las curvas de toxicidad para los diferentes tóxicos usados en el orden ya especificado. Las figuras 3, y 4 se refieren a las pruebas para estimación de intervalo, en tanto que la figura 5 lo hace para la prueba definitiva con Dodecil sulfato de sodio.

Fig.1 ANALISIS DEL CONTENIDO ESTOMACAL
EN HEMBRAS DE *G. multiradiatus*.

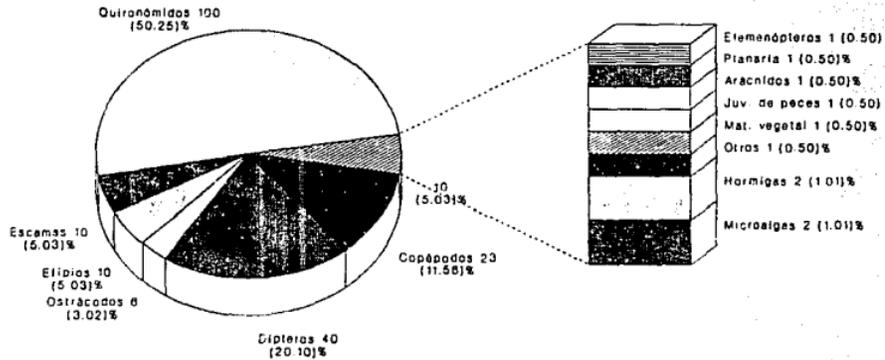


Fig.2 ANALISIS DEL CONTENIDO ESTOMACAL
EN MACHOS DE *G. multiradiatus*.

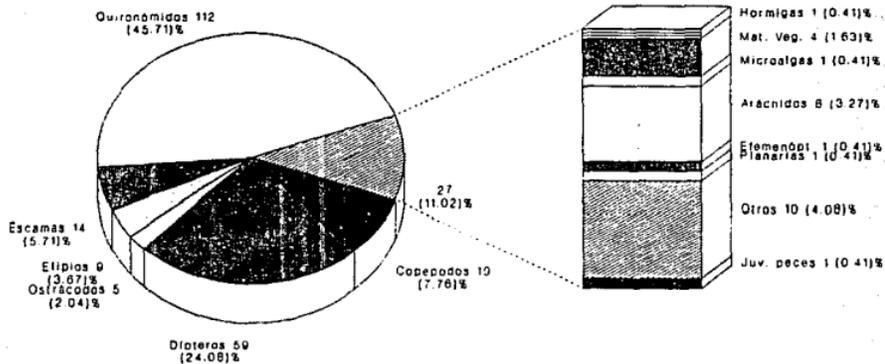
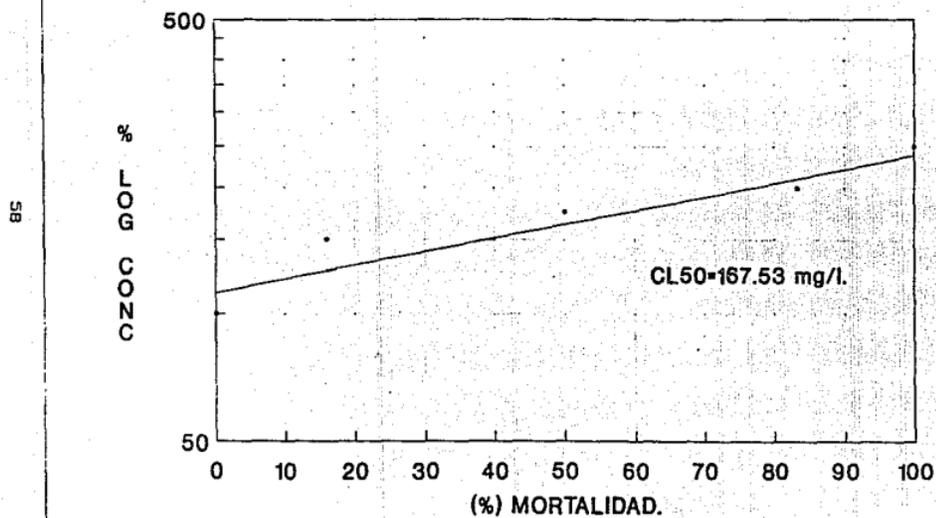
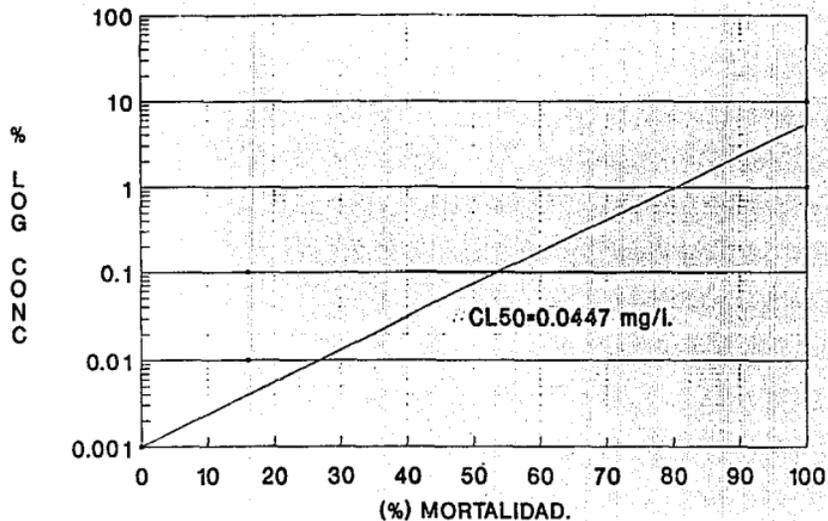


Fig. 3 CONCENTRACION LETAL MEDIA (96h)
DE CROMO CON JUVENILES DE
Girardinichthys multiradiatus.



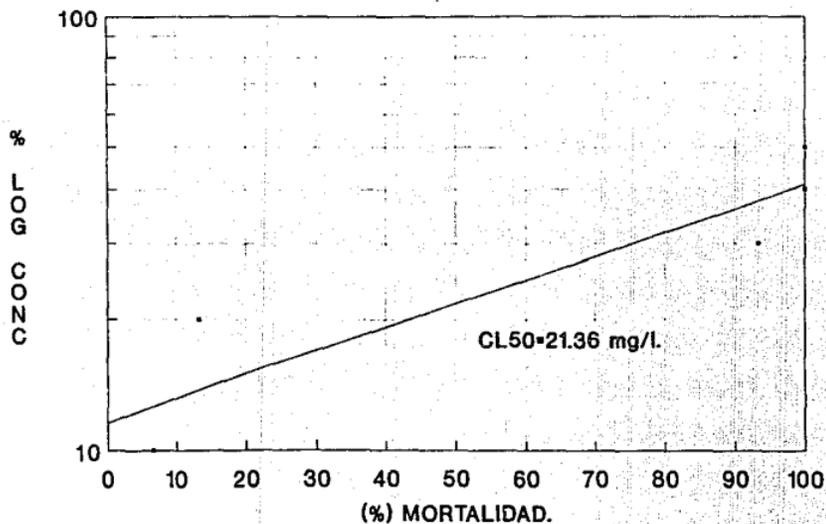
ajuste semilogarítmico.

Fig.4 CONCENTRACION LETAL MEDIA (96h)
DE CADMIO CON JUVENILES DE
Girardinichthys multiradiatus.



ajuste semilogarítmico.

Fig.5 CONCENTRACION LETAL MEDIA (96h)
DE SDS CON JUVENILES DE
Girardinichthys multiradiatus.



ajuste semilogarítmico.

7.-ANALISIS DE RESULTADOS.

Se efectuó 6 colectas en un período de más de 12 meses para de esta manera cubrir como mínimo un ciclo estacional, no observando diferencias significativas en la alimentación por sexos (como se observa en la figuras No.1 y 2), en general esta especie es omnívora, con tendencia hacia el carnivorismo, debido a que se ingieren un gran número de organismos animales; aunado ha esto la experiencia durante el estudio demostró que *G. multiradiatus* acepta también alimento comercial en escamas y plantas acuáticas aunque en menor grado.

El número de embriones por hembra fué de 40.375, aunque en un caso excepcional llegó a 104, esto se contrapone con lo mencionado por Taylor, (1982), quien señala que debido al gran tamaño de las crías las camadas son pequeñas variando esto de acuerdo con la especie, encontrándose que en algunas no sobrepasa de 6-8 pececillos y en cambio en otras el número puede ser de 30-40 por camada pero nunca llegando a un número tan grande de crías.

La proporción de sexos varía de acuerdo con la estación del año: a fines de primavera la proporción es la misma; en verano el número de hembras es mayor, encontrando la mayoría de ellas preñadas; durante el otoño disminuyen, acentuándose en invierno. Durante estas dos últimas estaciones el número de crías y juveniles indeterminados sexualmente aumentó, no contando con

registros debido a que la colecta se centró en organismos adultos. Al aumentar las hembras los machos se ven disminuidos ocurriendo lo inverso cuando estas disminuyen, lo cual puede estar influenciado por condiciones climáticas que rigen las actividades reproductivas, de esta manera se explica la brusca disminución del número de machos quienes son muy agresivos consecuentemente es de esperarse que durante el cortejo y apareamiento, existan pérdidas. (Taylor, 1982). Así mismo la reducción de las hembras puede explicarse por el agotamiento físico, durante el alumbramiento, esto se pudo observar en el laboratorio.

Para el establecimiento de *Girardinichthys multiradiatus* en el laboratorio las condiciones más aceptables son: acuarios de 40 l., provistos de aireación y filtro biológico; densidad de carga de 1 pez/2 l de agua; proporción de sexos de 2 hembras por un macho; pH=8; temperatura 19-24 °C; amonio <0.5 mg/l; salinidad 0.0; conductividad 360-370 µmhos; tiempo de iluminación 12h. En la literatura se cita que para un criadero de goodeidos debe de consistir en un tanque de 80 l., con 2-3 machos y 6-8 hembras, cubriendo el sustrato del tanque con musgo de java, el cual permitirá a las crías un lugar donde esconderse. Las condiciones del agua son importantes para los goodeidos y algunas especies son mucho menos tolerantes que otras, el valor de pH es determinante, el cual puede ser de hasta 9.0, en el acuario se recomienda que nunca sea menor a 7.4 y también es recomendable efectuar cambios de agua parciales del 25% del volumen del acuario cada semana, con agua de las mismas características químicas. El acuario debe de

estar bien aireado y filtrado, temperaturas entre 23.3 y 26.6 °C son satisfactorias (Taylor, 1982).

El comportamiento agresivo de los goodeidos se ve afectado por el cautiverio, dicho comportamiento se da entre organismos del mismo sexo, en especial entre los machos. Con respecto a la reproducción los datos permiten deducir que para esta especie existen jerarquías, las cuales permiten que el macho dominante fecunde a la mayoría de las hembras y estas, darán a luz en un término de 2.5 meses. Taylor, en 1982, menciona que los goodeidos requieren de 7 a 8 semanas, y que se pueden considerar como peces placentados ya que a diferencia de los poencilidos, los goodeidos poseen poco vitelo el cual es rápidamente consumido, y los pequeños huevos son liberados a la parte posterior de los ovarios, los cuales están constituidos por tejido altamente vascularizado, la trofotenia de los embriones establece un íntimo contacto con las paredes de los ovarios, efectuando un flujo de alimento de la madre a los embriones, desempeñando la trofotenia una función de cordón umbilical en los mamíferos placentarios, a medida que los embriones crecen la trofotenia se contrae y puede estar totalmente ausente en los peces recién nacidos. Debido a esto los goodeidos nacidos son de mayor tamaño y desarrollo que los poencilidos. En laboratorio se observó que en algunos casos los alevines nacidos mostraban malformaciones y un desarrollo menor con respecto a otros peces de la misma camada, esto es probablemente debido a una falla en la unión de la trofotenia con el ovario, llevando a una deficiencia en el aporte de nutrientes por parte de la madre, o

posiblemente también puede ser por alguna falla genética.

Pruebas de toxicidad. Al término de la parte experimental solamente se pudo efectuar el cálculo de CL_{50} a las 96 h., para Dodecil sulfato de sodio, mediante la prueba formal cuyas características ya se mencionaron anteriormente, obteniéndose un valor de; 19.575 mg/l con un intervalo de confianza de ± 1.4 .

Tatem en 1976, concluye que las concentraciones de toxicidad del SDS para peces se localizan en el intervalo de 0.4-40 ppm., encontrando la CL_{50} de este tóxico para *G. multiradiatus* en dicho rango. Otros valores reportados para Dodecil sulfato de sodio se dan a continuación: *Cyprinus carpio* 28-32 mg/l, (Spieser, 1980), *Brachydanio rerio* 8.81 mg/l, *Jordanella floridae* 10 mg/l, *Salmo gairdneri* 5.95 mg/l. (Fogels y Sprague, 1977). Con estos valores se deduce que la sensibilidad de *G. multiradiatus* es media para este tóxico. En cambio para *Daphnia magna* se reportan valores de CL_{50} a las 48 h., de 10.3 mg/l (Lewis y Weber, 1984); y 21.3 mg/l de aquí se observa que para las mismas condiciones de prueba *G. multiradiatus*, es más sensible a este tóxico que *Daphnia magna*.

Los efectos observados de este tóxico sobre los organismos de ensayo son los siguientes: 1) inician con un comportamiento nervioso y reacciones de huida, pudiendo ser la causa la percepción olfativo-gustativa, ó la acción cáustica del tóxico sobre la piel y órganos de los sentidos; 2) posteriormente se presenta un nado superficial, con natación anormal; 3) la

ventilación opercular se vuelve irregular; 4) los peces se sitúan inmediatamente por debajo de la película superficial del agua, presentando síntomas de aletargamiento; 5) inmediatamente se desencadena la muerte. Los cuerpos de los organismos al ser extraídos se disgregan, el tejido tegumentario se observa con una coloración blanca, a demás de estar visiblemente dañado y sin consistencia.

Al efectuar la comparación entre el método gráfico (curva de toxicidad fig. No. 5), y el método estadístico (Probit), se observa que el último nos brinda una mayor exactitud, con respecto al primero, debido a que éste método no proporciona un intervalo de confianza acerca de la estimación de la CL_{50} pero sí una aproximación de la concentración letal, más rápidamente, que cualquiera de los métodos estadísticos.

Para los tóxicos restantes solo se efectuó la prueba para la determinación de intervalo, debido a la falta de organismos adecuados para el ensayo, por la ausencia de una fuente de organismos sanos, ya que la población silvestre de *G. multiradiatus* de la cual se colectaron los reproductores, se vió afectada por el protozoario *Ictiophthyrus sp* que produce la "enfermedad del punto blanco", debilitando y reduciendo el número de organismos, así como su resistencia al transporte. Por ello se optó por concluir la parte experimental de este trabajo.

Las concentraciones letales para cadmio (determinada por el

método Angulos móviles) y cromo (por el método Probit) fueron las siguientes: 0.080 mg/l, límite superior=0.3719, límite inferior=0.00554 mg/l; y 174.985 mg/l \pm 7.05 mg/l, respectivamente.

Para Cadmio se han reportado en la literatura varios valores para diferentes especies de peces, y se observa que las CL_{50} 's para *G. multiradiatus*, se encuentran próximas a las reportadas para *Salmo gairdneri*, y superior a las de *O. tshawytscha* y al mismo tiempo se encuentran muy por abajo de las demás especies de peces.

Con respecto a *Daphnia magna*: Pickering et al. (1989); Roush et al. (1985); Lewis y Weber, (1984), reportan los siguientes valores de CL_{50} 's con Cadmio 0.01 mg/L, 0.024 mg/L, 0.118 mg/L, respectivamente. De estos valores se puede ver que *G. multiradiatus* es ligeramente menos sensible que *Daphnia magna*.

Las alteraciones producidas por Cadmio en los peces de prueba son: 1) aletargamiento paulatino; 2) pérdida del equilibrio; 3) paralización del cuerpo y posterior muerte.

Para este tóxico el método gráfico (fig. 4), proporciona el valor de 0.044 mg/l y al igual que en el caso anterior se observa una mayor precisión en el método estadístico.

Para Cromo la CL_{50} =174.9847 mg/l \pm 7.05, dicho valor al compararse con los de la introducción nos indica que la sensibilidad de *G. multiradiatus*, es semejante a la de *Carassius*

auratus y mucho menor que los demás peces mencionados. Para *D. magnam*, Müller (1980), proporciona una $CL_{50} = 1.7$ mg/L a las 48 h, siendo este valor muy pequeño en comparación al obtenido en el ensayo con *Girardinichthys multiradiatus*.

Los efectos observados durante la prueba se mencionan a continuación: 1) los peces al entrar en contacto con el tóxico presentan una reacción de huida, con natación frenética alrededor del recipiente de prueba; 2) síntomas de asfixia; 3) pérdidas del equilibrio y falta de orientación, llegando a chocar en las paredes del contenedor; 4) una vez muertos presentaron cuerpos rígidos; 4) los organismos sobrevivientes en las concentraciones más bajas presentaron un retardo en el crecimiento y diferenciación sexual, no alcanzando la talla promedio de los organismos maduros de esta misma especie.

B.-CONCLUSIONES.

La especie de prueba reúne las características siguientes que la hacen apta para ser utilizada como organismo de prueba en bioensayos: 1) son organismos vivíparos; 2) crías de tamaño moderadamente grande, y al nacer tienen un estado de desarrollo avanzado respecto a los vivíparos de la familia poeciliidae; 3) son omnívoros y aceptan tanto alimento vivo como seco comercial, lo cual la hace fácil de mantener en cautiverio; 4) se puede reproducir en cautiverio; 5) el número de crías por hembra es en promedio de 40 organismos por camada considerados como prolíferos; 6) se restablece rápidamente después de padecer las enfermedades más comunes de peces de ornato; 7) resiste prolongados períodos sin alimentación (4-5 días). Por otro lado los aspectos negativos de esta especie son: 1) agresividad entre organismos del mismo sexo; 2) sus requerimientos de agua limpia y espacio es grande; 3) tasa promedio de organismos mal formados llega a ser alta; 4) falta de continuidad en la reproducción, al menos en las condiciones aplicadas en este trabajo.

Girardinichthys multiradiatus presenta las siguientes concentraciones letales (CL_{50} a las 96 hr) y un intervalo de confianza de 0.95: SDS, 19.575 mg/l \pm 1.4; Cadmio 0.08 mg/l límite superior 0.3736 e inferior de 0.0055 mg/l; Cromo 174.935 mg/l \pm 7.05 mg/l, de estos valores se concluye que la especie de prueba es para Cd^{+2} y SDS, tan sensible como *D. magna* y *S.*

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

gairdneri siendo más sensible que otras especies como por ejemplo *C. auratus*. Mientras que para Cromo su sensibilidad fué menor que la mostrada por *D. magna*, y *S. gairdneri* pero muy semejante a la que presenta *C. auratus*, por lo cual esta especie puede ser utilizada confiablemente como organismo de prueba pero para tener una mayor seguridad se deberá sujetarse a posteriores pruebas con otros tóxicos de referencia y otras condiciones de ensayo.

9.-BIBLIOGRAFIA.

- Abel, P. D., y J. F. Skidmore 1974. Toxic effects of an anionic detergent on the gills of Rainbow trout. Wat. Res. 9;795-765.
- A.P.H.A./A.W.W.A./W.P.C.F., 1985. Standard Methods for the examination of water and waste-water, part. 800-toxicity test methods. Washington, D.C. American Public Health Association. 689-872.
- Alabaster, J. S., 1980. Water quality criteria for freshwater fish. F.A.O. Butter Worths, London, Ing. 233-281.
- Alvarez del Villar, J., 1972. Ictiología Michoacana V. Origen y distribución de la ictiofauna dulceacuícola de Michoacán. An. Esc. Nac. Cienc. Biol., Méx., 19;155-161.
- Arredondo, F. J., 1986. Especies acuáticas de valor alimenticio introducidas en México. "Reunión continental sobre la ciencia y el hombre". Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Resumen.
- Bennett, D., 1974. Introducción a la ecología de campo. 2da Edición editorial Blumme, España.
- Benoit D. A., E. N. Lonard, G. M. Christensen y J. T. Fiandt, 1976. Toxic effect of cadmium on thret generation of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Trans. Am. Fish. Soc. 105;550-560.
- Boyd, C. E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish ponds. Auburn University Agricultural Experiment Station. Auburn Alabama. 359
- Buckley A. J., A. Y. Gary, R. W. Norma y T. A. Romero, 1985. Toxicities of total and chelex-labile cadmium to salmon in solutions of natural water and diluted sewage with potentially different cadmium complexing capacities. wat. Res. 19;1549-1554.
- Buikema, A. L., B. R. Niederlehner y J. Cairns .1982. Biological monitoring, part IV. Toxicity testing. Wat. Res. 16; 239-262.
- Calamari D., R. Marchetti y G. Vailati. 1979. Influence of water

- hardness on cadmium toxicity to *Salmo gairdneri* Rich. Wat. Res. 14;1421-1426.
- Cervantes Sandoval A. 1988. Manual de técnicas básicas para el análisis de ambientes acuáticos. Dpto de Biología. Esc. Nac. de Est. Profesionales Zaragoza-UNAM. México D. F.
- Chávez-Toledo C. 1987. Ictiofauna del alto Lerma; aspectos sistemáticos, zoogeográficos y ecológicos. Proyecto de investigación. (tesis Biólogo IFN), México D.,F.
- Curtis, W. M., 1979. Acute toxicity of 12 industrial chemicals to freshwater and saltwater organisms. Wat. Res. 13;137-141.
- DETENAL, 1986. Cartas; Topográficas, Edafológicas, Geológicas, Uso potencial del suelo. 6ta. reimpression. Toluca (E-14-A-38), Escala 1:50,000, Méx, D. F.
- Eaton J. G., J. M. Mckim y G. W. Holcombe. 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species-I. cadmium. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 19;95-103.
- Finney D. J., 1971. Probit analysis. 3ra edición, impreso en Inglaterra 333 pág.
- Fogels A., J. B. Sprague 1977. Comparative short-term tolerance of zebrafish, flagfish, and rainbow trout to five poisons including potential reference toxicants Wat. Res. 11;811-817.
- García M. E. 1980. Apuntes de climatología. Méx, D. F. 153 pág.
- 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. México, D. F. 213 pág.
- Garofano S. J. y I. H. Henry, 1982. Pripheiral effects of cadmium on the blood y head kidney in the brown bullhead (*Ictalunus nebulosus*). Bull. Environm. Contam. Toxicol. 28;553-556.
- Godínez Rodriguez, M. A. 1991. Peces-dulceacuícolas Mexicanos. IV *Ilyodon whitei*. Zoología Informa. 21:18-25
- Hatakeyama S., y M. Yasumo 1982. Accumulation and affects of cadmium on guppy (*Poecilia reticulata*) fed cadmium-dosed cladocera (*Moina macrocopa*). Bull. Environm. Contam. Toxicol.29;159-166.
- Horning, B. W.; y C. I. Weber, 1985. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to fresh water organisms. Env. Monitoring and Support

- Laboratory-Cincinnati Office Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio 45268.
- Hubbs C. L. y C. L. Turner 1939. Studies of the fishes of order cyprinodontes XIV. A revision of the goodeidae. Misc. Publ. Mus Zool. Univ. Michigan 42;1-180.
- Iwama, K. G. y G. L. Gree., 1979. Toxicity of Sodium Pentaclorophenate to juvenile Chinok salmon under conditions of high loading density and continuous-flow exposure. Bull. Environm. Cont. Toxicol. 23:711-716.
- Lewis A. P., y Cornelius I. Weber 1984. A study of the reliability of *Daphnia* acute toxicity tests. A. S. T. M. Philadelphia, PA 19103. pp 73-83.
- Majewsky S. H. y M. A. Giles 1981. Cardiovascular respiratory responses of rainbow trout (*Salmo gairneri*) during chronic exposure to sublethal concentration of cadmium. Wat. Res. 15;1211-1217.
- Martínez, J. F., 1988. El bioensayo como herramienta de trabajo en el estudio de la contaminación acuática. Instituto Politécnico Nacional. Esc. Nac. de Cienc. Biológicas. México D. F. 98 pág.
- 1990 Contaminación acuática y toxicología. Zoología Informa 19;2-20.
- 1990 Contaminación acuática y toxicología. Zoología Informa 20;2-20.
- Moraitou, A. M., G. Verriopoulos, y P. Lentzou 1979. Effects of sublethal concentrations of cadmium as possible indicators of cadmium pollution for two populations of *Acartia clausi* (Copepoda) living at two different polluted areas. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 23:642-645.
- Muramoto S. 1981 Variations of some elements in cadmium-induced, malformed fish. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 27;193-200.
- Murphy B. C., Jr., O'Brien y Gere Engineers, Inc., Syracuse, N. Y. 1981. Bioaccumulation and toxicity of heavy metals and related trace elements. Journal WPCF, 53;993-999.
- , Stuart J. Spiegel. 1982. Bioaccumulation and toxicity of heavy metals and related trace elements. Journal WPCF, 54;849-853.

- Müller G. H. 1980. Acute toxicity of potassium dichromate to *Daphnia magna* as a function the water quality. Journal WPCF, 25;113-117.
- Peltier, W. H. y C. I. Weber. 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. Third edition. Environ. Monitoring and Support Laboratory Cincinnati, Office of Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati Ohio 45268.
- Phipps L. G., J. H. Mary, N. L. Edward, H. R. Thomas, D. L. Spehar, E. S. Charles, H. P. Quentin, L. B. Arthur, 1984. Effects of pollution on freshwater organisms. Journal WPCF, 56;725-758.758.
- Pickering G., O. C. Daria, P. Anne, W. Tom, M. L. James. 1989. Effects of pollution on freshwater organisms. Journal WPCF, 61;998-1042.
- Roush H. T., L. P. Gary, L. S. Diane, E. S. Charles, H. P. Quentin. 1985. Effects of pollution on freshwater organisms. Journal WPCF, 57;667-698.698.
- S.E.D.U.E. 1988. Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente. Diario Oficial de la Federación. 28 de enero 1988, México D. F.
- 1989. Criterios Ecológicos de Calidad de Agua (CE-CCA-001/89). Diario Oficial de la Federación. 13 de diciembre 1989. México D. F.
- Sitting, M. 1976. Toxic metals. Noyes Data Corporation, New Jersey U.S.A.
- Soto, G. E. y D. P. Edmundo, M. G. Cecilia. 1990. Peces dulceacuícolas Mexicanos. III *Allophorus rubustus*. Zoología Informa. 19-20:21-29.
- Spehar L. R., G. W. Holcombe, R.W. Carlson, R. A. Drummond, J. D. Yount, y G. H. Pickering. 1979. Effects of pollution on freshwater fish. Journal WPCF, 51;1616-1694.
- , R. W. Carlson, A. E. Lemke, D. I. Mount, G. H. Pickering, V. M. Snarski. 1980. Effects of pollution on freshwater fish. Journal WPCF, 52;1703-1768.
- , A. E. Lemke, G. H. Pickering, T. H. Roush, R. C. Russo, J. D. Yount. 1981. Effects of pollution on

- freshwater fish. Journal WPCF, 53;1028-1076.
- , G. M. Christensen, C. Curtis, A. E. Lemke, T. J. Norberg, G. H. Pickering. 1982. Effects of pollution on freshwater fish. Journal WPCF, 54;877-922.
- Spieser O. H. 1980. Toxicologia psicola. Inst. de toxicologia y bioquímica Nedherbergbe Munichere Alemania 363-420.
- Sprague, B. J. 1969. Review paper. Measurement of pollutant toxicity to fish. Bioassay Methods for Acute Toxicity. Wat. Res. 3:793-821.
- 1970. Measurement of pollutant toxicity to fish II. Utilizing and applying bioassay results. wat. Res. 4;3-32.
- 1971. Measurement of pollutant toxicity to fish III. sublethal effects and "safe" concentrations. Wat. Res. 5:245-266.
- Taylor C. E. 1982 Goodeid Potpourri. Tropical Fish Hobbyist. U.S.A. October. 30-41.
- Tatem M. E., J. W. Anderson, y J. M. Neff. 1976 Seasonal and laboratory variations in the health of grass shrimp *Palaemonetes pugio*: Dodecyl Sodium Sulfate Bioassay. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 16;368-375.
- Tvell A. W. P., C. Newsome y D. Hones. 1973. Effect of water hardness on the toxicity of an anionic detergent to fish. Wat. Res. 8;291-296.
- Voyer, A. R. y J. F. Heltshe. 1989. Factor interactions and aquatic toxicity testing. Wat. Res. 18;441-447.
- U. S. EPA. 1985. Technical support document for water quality-based toxics control. Washington, D. C. 174 pág.
- Waldichuck, 1973. Trends in methodology for evaluation of effects of pollutants on marine organisms and ecosystems. CRC. Critical reviews 167-211.
- Waite T.D., 1984. Principles of water quality. Academic Press, Inc. Orlando, fla. 12;289.