

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

15
2ej.

CAMPUS IZTACALA

DETERMINACION DE METALES PESADOS EN EL ANFIBIO *Bufo valliceps* EN LA ZONA AGRICOLA DE METZTITLAN, HIDALGO.

T E S I S

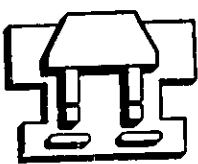
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

ENEDINA CAMARGO CRUZ

DIR. DE TESIS: M. EN C. RODOLFO GARCIA COLLAZO



LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO.

1998

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

258902



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

Esté trabajo marca la culminación de una etapa muy importante de mi vida, la que no hubiese sido posible de realizar sin el apoyo de mi familia, especialmente

**MIS PADRES : JUAN CAMARGO LOPEZ
 MA. DEL CARMEN CRUZ CANO**

Por haberme dado la vida, confianza y la oportunidad de realizar una carrera profesional. Quienes han sido para mí el mejor ejemplo de superación, rectitud y perseverancia.

A MIS HERMANOS : Especialmente a NARCIZO Y JORGE, Por el incondicional apoyo brindado en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al M. en C. Rodolfo García Collazo por su dirección en el desarrollo de esta tesis, por su valiosa ayuda, paciencia y amistad.

Mi sincero agradecimiento al Químico Fidel Pérez y la Biol. Yolanda Marmolejo S. por las facilidades otorgadas para utilizar su equipo de laboratorio, su asesoría para el desarrollo de la metodología, comentarios al trabajo y sobre todo por su amistad.

A los sinodales, que con sus comentarios, sugerencias y aportaciones al manuscrito ayudaron a mejorar este trabajo, gracias a: Biol. Patricia Ramírez B., Biol. Antonio Cisneros C., Biol. Enrique Godínez C. y al Biol. Daniel Muñoz I.

Al Centro de Investigaciones Biológicas por facilitarnos el espacio para realizar parte del trabajo experimental y al laboratorio de química de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por permitirnos usar el Espectro de Emisión en Plasma y demás equipo de laboratorio.

Al Museo de las Ciencias Biológicas Iztacala "Enrique Beltrán" por el apoyo brindado en las salidas al campo, especialmente al Biol. T. Adrián Altamirano A.

Muy especialmente al Sr. Ildo y a su esposa Georgina de Meztitlán Hidalgo por todas sus atenciones y apoyo para la realización de este estudio.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente me brindaron su ayuda y apoyo.

INDICE

RESUMEN	i
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS	15
DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO	16
METODOS	22
RESULTADOS	30
ANALISIS DE RESULTADOS	54
CONCLUSIONES	67
LITERATURA CITADA	69
ANEXO I	76
ANEXO II	79

RESUMEN

El presente estudio se realizó en las inmediaciones de la Laguna y Zona Agrícola de Meztlán Hidalgo con el sapo *Bufo valliceps*. Se determinaron las concentraciones de siete metales (Zn, Pb, Cd, Mn, Cu, Fe y Al) en diferentes etapas de desarrollo de esta especie, en huevos oviductales, estadios larvarios, juveniles, y en algunos tejidos (riñón, corazón, músculo, hígado y cuerpos grasos) de organismos adultos, contenido estomacal, así como el medio en donde se desarrolla (agua-sedimento). Los muestreos se realizaron de Septiembre de 1995 a Marzo de 1996, una vez obtenidas las muestras se procesaron mediante una digestión con ácidos y se leyeron las concentraciones de los metales en un espectrofotómetro de emisión en plasma. Los resultados se procesaron a través de un análisis de varianza multivariado y se reforzaron con un Índice de Bioacumulación. Los resultados muestran acumulación diferencial de los metales en los tejidos así como en huevos oviductales y en los diferentes estadios larvarios. La presencia de los metales en los organismos es reflejo de su disponibilidad en el medio (agua y sedimentos). Los valores altos de plomo y cadmio que son elementos no esenciales en la fisiología de los organismos, muestra el efecto de contaminación que presenta la zona, seguramente por las actividades agrícolas que se desarrollan en las inmediaciones de la laguna. Los valores elevados de plomo, cadmio, manganeso y aluminio en tejidos y en las diferentes etapas de desarrollo de *B. valliceps* pueden estar ocasionando problemas de malformaciones, daños neurotóxicos, osteoporosis en diferente magnitud e incluso la muerte.

INTRODUCCIÓN

México es reconocido como uno de los siete países con mayor riqueza biológica en el mundo (Anónimo, 1988; Toledo, 1988). Dicha riqueza se debe a su variada Topografía que provoca amplias gamas climáticas, su posición Geográfica entre la región Neartica y Neotropical ha propiciado que se de una mezcla faunística sin igual (Savage, 1982).

En cuanto a los anfibios se sabe que en México existen 290 especies de las cuales el 60.7% son endémicas y se considera que el 83.4% son endémicas para Mesoamérica (Flores-Villela y Navarro, 1993).

Los datos recientes muestran que el 22 % de las especies de anfibios y reptiles de México se encuentran en peligro de extinción, sin embargo, la información disponible respecto a los anfibios es aún muy escasa lo que sugiere que el porcentaje anterior puede ser en realidad mayor (Ceballos, 1993).

Las poblaciones de anfibios en la naturaleza se encuentran actualmente en estado alarmante de deterioro. Especies que se recolectaban con frecuencia hace 30 ó 40 años en ciertas regiones, ahora son muy raras o se consideran totalmente extintas de su hábitats (Santos *et al.*, 1994). A nivel mundial ha surgido la alarma de que las poblaciones de anfibios se han visto disminuidas notablemente, ello ha traído como consecuencia la formación en 1990 de un organismo descentralizado llamado Declining Amphibian Populations Task Force IUCN/SSC encargado de formular planes de acción para abordar el problema. Este organismo considera que el descenso global de las poblaciones de anfibios es causada directa o indirectamente por las actividades humanas. Inicia con la destrucción del hábitat, incremento de la contaminación de agua y suelo (causado por el uso indiscriminado de agroquímicos), introducción de especies exóticas (peces, árboles, etc.), incremento de la radiación ultravioleta, ataque bacteriano y cambios climáticos entre las más importantes (DAPFT, 1993; Pechman y Wilbur, 1994; Boyer y Grue, 1995; Berril *et. al.*, 1993).

En cuanto a la contaminación por agroquímicos se ha observado que algunos metales como el Fe, Zn, Cu, Mn y Pb se encuentran en altas concentraciones en ciertos productos para la agricultura (fertilizantes, plagicidas y herbicidas) y que estos presentan afinidad por ciertas proteínas y lípidos lo que les permite acumularse en los tejidos de los animales, los cuales a largo plazo afectan la salud de la fauna silvestre (Casarett, 1980).

Los anfibios pueden ser afectados por la contaminación con metales pesados por su estrecho contacto con el agua y sedimentos de los cuerpos de agua que suelen ser generalmente depositarios de los desechos de las actividades humanas (Eby, 1986). Los anfibios son particularmente sensibles debido a su piel permeable, a su historia de vida bimodal, al patrón del desarrollo embrionario, a los aspectos de su biología poblacional y a la complejidad de sus interacciones en comunidades y ecosistemas (Wake, 1991).

Casi todos los metales son tóxicos en concentraciones altas y algunos de ellos constituyen venenos graves incluso a muy baja concentración. La toxicidad puede resultar cuando se ve sometido a una concentración excesiva del metal durante un período prolongado, cuando el metal se presenta en una forma bioquímica inusitada o poco usual y cuando el organismo lo absorbe por vía inusual (Bolaños, 1990).

Hasta el momento no se han publicado investigaciones que aborden el tema de cuantificación de las concentraciones de metales pesados y/o efectos de estos en alguna población de anfibios de México. Para abordar este tema existen algunas limitantes como: no hay referencias de tamaños poblacionales de la mayoría de las especies de anfibios del país, por lo que no se puede saber si se ha reducido el número de organismos; otra limitante es que no hay antecedentes de valores normales o anormales de metales pesados en tejidos de los anfibios. Por lo que el presente estudio ayudará a conocer los valores presentes de algunos metales pesados en el sitio donde se desarrolla una población de *Bufo valliceps*, de Meztitlán Hidalgo donde existe un intenso uso de agroquímicos para las actividades agrícolas y en segundo lugar cuantificar las concentraciones de los metales en algunos tejidos del anfibio y con esto establecer el o los posibles efectos que pudieran sufrir de rebasarse ciertos niveles de acuerdo a la literatura existente.

ANTECEDENTES

Los metales son aquellos elementos químicos que presentan ciertas propiedades comunes: conductividad eléctrica y térmica alta, maleabilidad y brillo. Los metales se encuentran en forma aislada o combinados formando minerales (CPEHS, OPS y OMS, 1988).

Los llamados metales pesados, metales traza u oligoelementos se definen arbitrariamente como aquellos metales cuya densidad es por lo menos cinco veces mayor que la del agua (Bolaños, op. cit.). Los metales pesados, están ubicados en el grupo B (elementos de transición) y en los períodos 4, 5 y 6 de los grupos III y IV del grupo A de la tabla periódica, con densidades mayores a los 5 gr/cm³ (Forstner y Wittmann, 1979).

Muchos metales pesados son indispensables para la vida, aunque solo se encuentran en cantidades muy pequeñas en los tejidos del cuerpo, incluso, algunos organismos tienen afinidad por algunos elementos particulares como el zinc en las ostras, y el vanadio en la sangre de los Tunicados (Bolaños, op. cit.).

En el ambiente la concentración de algunos metales puede elevarse al grado que llega a constituir una contaminación, la cual puede ser de origen natural, de acuerdo a un ciclo biogeoquímico o bien puede ser una contaminación causada por una actividad humana, entonces considerada antropogénica (CPEHS, OPS Y OMS, 1988).

La contaminación natural por metales se produce a partir de las actividades volcánicas, los procesos de erosión, los escapes de depósitos profundos y superficiales, intemperismo de las rocas, gasificación y disolución de los elementos marinos (Bolaños, 1990; CPEHS, OPS Y OMS, 1988).

Las principales fuentes antropogénicas de metales atmosféricos incluyen combustión de fósiles, emisión de plantas de cemento, operaciones de energía y refinación de metales, construcción de carreteras y procesos manufactureros diversos. En general los procesos de combustión a altas temperaturas liberan muchos metales a la atmósfera y en este caso, los metales se asocian con materia particulada submicroscópica (Bolaños, op. cit.).

Algunos de los metales más ubicuos y aquellos que en concentraciones elevadas tienen efectos tóxicos son el aluminio, arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, manganeso, plomo y zinc principalmente (CPEHS, OPS y OMS, 1988; Bolaños, op. cit.).

La toxicidad de un metal depende de su vía de administración y del compuesto químico al que está ligado, un metal puede considerarse tóxico si resulta perjudicial para el crecimiento o el metabolismo de las células al exceder cierta concentración. Los metales constituyen venenos graves incluso a muy bajas concentraciones (Bolaños, op. cit.).

Los efectos subletales se pueden presentar sobre la morfología, fisiología o comportamiento por interacciones con sistemas enzimáticos, interacciones con las membranas celulares, efectos específicos sobre ciertos organelos y sobre el metabolismo celular general. Experimentos recientes de campo confirman que concentraciones relativamente bajas, algunas veces dentro de un orden de magnitud del nivel natural, pueden tener efectos subletales sobre los organismos y ser deletéreos para su sobrevivencia (Bolaños, op. cit.; CPEHS, OPS y OMS, op. cit.).

El problema esencial que plantea los metales pesados es que muchos de ellos se han utilizado durante siglos y son fundamentales para industrias importantes, pero pueden perjudicar la salud y trastornar el equilibrio de los sistemas ambientales si se permite que alcancen concentraciones excesivas en aire, agua, suelo o alimentos.

Se sabe muy poco sobre los efectos de los metales en los ecosistemas algunos metales parecen influir en el ritmo de procesos básicos, pequeñas cantidades de cobre pueden retardar la descomposición de hojarasca en bosques. Sin embargo, el cobre y zinc en pequeñas cantidades son nutrimentos esenciales para la mayoría de los organismos. El Cadmio se acumula en órganos de animales, también se ha demostrado que aumentan los niveles de plomo en riñones e hígado de las ovejas que pastan cerca de las carreteras (CPEHS, OPS y OMS, op. cit.).

Estudio de metales en Suelo

Estudios que se han realizado en suelos de Palmerton de EUA registraron como contaminación una concentración de 230 a 24000 ppm de Zn y de 9.9 a 440 ppm de Cu (Beyer *et al.*, 1985).

En suelos cercanos a una fundidora en Palmerton Pennsylvania, EUA mostraron tener una fuerte contaminación por Pb con valores de 41 a 2700 ppm.

Beyer *et al.*, 1985 reportan suelos contaminados con un valor de 710 ppm de cadmio.

Estudio de metales en Anfibios

El efecto de los metales pesados en la problemática de sobrevivencia de anfibios ya ha sido visualizada, Megan Harris (1993) reporta los efectos de químicos utilizados en la agricultura sobre los anfibios. El rociado con fungicidas e insecticidas trae como consecuencia bajos niveles de sobrevivencia e incremento en deformaciones en ranas. El servicio de vida silvestre canadiense muestra que algunos pesticidas tienen efecto letal en renacuajos.

Después de construir una carretera de alta velocidad en 1963 cerca de Newfoundland Grap EUA., la vida acuática fue completamente eliminada en arroyos cercanos a la construcción, la mortalidad de la salamandra (*Lineatritum marmoratus*) se atribuye a la acidificación por metales pesados formados a través de procesos redox asociado con el contenido de pirita, compuesto derivado de la roca que contribuyó a la intoxicación, al proceso de acidificación y a la concentración de metales pesados (Mathews y Morgan, 1982).

Al tratar huevos fertilizados de una rana Coreana con metales pesados resultaron alteraciones cuantitativas de las células primordiales. La formación de estas células se inhibió por un limitado nivel de metales pesados durante los primeros estadios del desarrollo embrionario. Una dosis total de plomo, arriba de 70 ppm y dosis de cadmio arriba de 4 ppm resulto una reducción parcial de células germinales y el estado latente mitótico. Aparentemente el tratamiento con metales pesados a huevos antes de la primera división no es altamente efectiva en la eliminación completa de células germinales en contraste con radiación ultravioleta, sin embargo la citolisis del tejido ocurre en los renacuajos (Hah, 1979).

Al exponer a huevos de *Xenopus laevis* a valores de 0.001, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, y 10 ppm de Pb por separado, ocasionaron deformaciones severas en los embriones, del orden del 59, 74, 82, 96 y 100 % y muerte respectivamente; además de las deformaciones se dio la detención del desarrollo, edemas, escaso pigmento, parálisis y no se presenta enrollamiento del intestino en larvas (Miller y Landesman, 1978).

Concentraciones de 0.001, 0.1, 0.1, 0.5, 1.0 y 10 ppm de Mn en agua han provocado deformaciones severas en los organismos del orden del 92 %, 87 %, 87 %, 79 %, muerte y 54 % respectivamente en *Xenopus laevis* (Miller y Landesman, 1978).

Baudo (1976) reporta como concentración alta de Pb 9.54 ppm en huevos de *Rana esculeta*.

Se ha reportado efectos tóxicos en larvas de *Rana pipiens* expuestas a concentraciones de 0.31 a 1.56 ppm de Cu en agua, lo que les ocasiona la muerte, pero a embriones dicha concentración no es letal. (Dilling y Healey, 1925 en Freda, 1991).

Cuando las concentraciones de Cu alcanzan valores de 60 ppm provoca la inhibición del crecimiento en *R. pipiens* y con valores de 150 ppm las larvas recién eclosionadas sobreviven solo 72 hr (Lande y Guttman, 1973 en Freda, 1991). *Xenopus laevis* en su estado larval sólo vive 96 hrs. al exponerse a 157 ppm (Freda, 1991).

En larvas de *Bufo boreas* se considera que el límite letal en Cu es tan sólo de 20 - 44 ppb (Porter y Hakanson, 1976 en Freda, 1991).

Se estimó que los niveles de Cd, Zn y Pb en invertebrados, anfibios y aves localizados en áreas urbanas y rurales cercanas a plantas productoras de zinc en Polonia presentaron altos valores y las concentraciones de cadmio, zinc y plomo vario grandemente en los niveles tróficos. Los niveles de metales en suelo también resultaron ser altos. Los valores son bajos en plantas e incrementa rápidamente en fitófagos (Dmowski y Karolewski, 1979).

El Río Grande localizado en el Sureste de Missouri EUA ha sido sujeto a contaminación por metales vía erosión y filtración de grandes pilas de plomo inactivo de unas minas. *Rana catesbeiana*, rata almizclera y la garza verde presentan altas concentraciones de plomo y cadmio. *Nerodia sipedon* presenta altos valores de plomo pero no acumulación de cadmio. Las concentraciones de zinc en vertebrados en un lugar contaminado y uno no contaminado son menos aparentes en las diferencias de plomo y cadmio. Se encontró que existe baja relación entre la concentración de metales en animales y su nivel trófico. Los sapos toro resultaron ser promisorios para monitorear niveles ambientales de plomo, cadmio y zinc ya que dichos metales tienen afinidad al tejido del anfibio (Niethammer *et al.*, 1985).

Se ha encontrado en *Xenopus laevis* mayor concentración del Pb en riñón e hígado y baja concentración en piel y músculo (Ireland, 1977). Y se sabe que 4 ppm provocan citolisis en rana coreana (Han, 1979), y valores de 2.0 ppm en hígado de algunas aves afecta adversamente mecanismos enzimáticos (Dieter, 1979).

En larvas de *Rana clamitans* Taylor *et al.* (1990) provocó variabilidad de la actividad locomotora, experimentando con concentraciones de 750 y 1000 ppb de plomo atribuible al efecto neurotóxico del plomo.

Renacuajos expuestos durante 10 días en agua original y filtrada experimentaron efectos tóxicos cuando los metales pesados rebasaron los niveles de tolerancia y tuvo particular importancia las altas concentraciones de cadmio (Bordas *et al.*, 1980).

Huevos y larvas de *Xenopus laevis* al ser expuestos a concentraciones de 0.001, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0 y 10 ppm de cadmio en agua han presentado deformaciones severas del orden del 91 %, 91 %, 87 %, muerte, 2 % y muerte de los organismos respectivamente, entre los afectos observados están: la detención del desarrollo, edemas, pigmentación pobre, parálisis y no hay plegamiento del intestino (Miller y Landesman, 1978).

Los estadios larvarios de *Bufo arenarum* expuestos a 1, 2 y 4 ppm de Cd en agua, han sufrido mortalidad en una proporción del 5 %, 25% y 90 % respectivamente a las 72 hrs. de la exposición, antes de la muerte, sufren de edemas, nado en posición anormal, pérdida del equilibrio, incremento de la irritabilidad, contracciones arritmicas, incurvación del blando axial y caída de la piel; la toxicidad del Cd se interpreta como un efecto secundario del efecto inhibitorio de la ATPasa epitelial (Muiño *et al.*, 1990).

En embriones de *Xenopus laevis* se ha observado afectaciones en epidermis en el 40 % de los organismos, ojos en el 35 %, pronefros (24 % de los organismos) y 20 % en somitas de los embriones tratados con 2 ppm de Cd; es evidente su efecto en la organogénesis (Cotta, 1980).

De acuerdo con las observaciones de Baudo (1976) el manganeso alcanza mayor concentración en las primeras etapas de desarrollo larval (654 -776 ppm) y luego tiende a descender hasta 23 ppm, poco antes de la transformación total en larvas de *Rana esculeta*.

Se encontró que al exponer al sapo *Tectum blistrabas* de Rusia, a concentraciones de 10 a 200 $\mu\text{mol/l}$ de cadmio, le causo daño al sistema nervioso central. El efecto depende de los canales de calcio (Blistrabas *et al.*, 1989).

La acumulación y distribución de cadmio en tejidos de *Rana temporaria* y sus efectos tóxicos dependen de la manera de incorporar el cadmio en el organismo. Inyecciones subcutáneas de cadmio (0.12-0.24 mg/100 g por día) por 10 días resulta en una acumulación significativa en el hígado y en el riñón. Cuando se suministró CdCl_2 al ambiente acuático (> 0.002 %) causa toxicidad aguda en la rana. Altas concentraciones externas de CdCl_2 (< 0.005 %) inhiben la actividad de Na, K-ATPasa de la piel (Vasil'eva *et al.*, 1987).

En otros experimentos con cadmio en Sapos de Egipto se demostró que causa atrofia testicular, necrosis de los túbulos seminíferos con signos de vacuolación y la degeneración de espermatozoides. Sin embargo, la administración combinada con zinc, previene los efectos tóxicos del cadmio (Sadek, 1988).

La toxicidad de cloruro de cadmio y sulfato de zinc en soluciones se determinó en larvas de *Xenopus*, en época de lluvia y en sistemas acuáticos recirculantes, los animales presentaron tolerancia al zinc, *Xenopus*, tolera 10 veces la dosis de cadmio que es letal para el salmón. El pre tratamiento con concentraciones subletales de cadmio y zinc protege al anfibio de exposiciones subsecuentes de los metales. La protección se atribuye a la síntesis de metalothioneína (Woodall *et al.*, 1988).

Una reducción progresiva en el número total de células sanguíneas se observó en *Rana cyanophlyctis* expuesta a 100 y 200 ppb de cobre por 40 días, los glóbulos blancos incrementaron significativamente durante los primeros 7 días de tratamiento y después mostró una reducción gradual, el contenido de hemoglobina se redujo significativamente (Patil y Shivaraj, 1984).

Baudo (1976) registra uniforme la concentración de Cu en los tejidos: hígado, ovario, riñón, corazón, pulmones y músculo donde el valor máximo fue de 10.49 ppm. Mientras que Beyer *et al.* (1985) registran diferentes cantidades del metal en organismos completos de *Plethodon cinereus* (5.5 ppm), *P. glutinosus* (3.86 ppm); *Bufo americanus* (6.92 ppm), *B. woodhousei* (6.7 ppm) y *Rana sylvatica* (5.5 ppm).

Rana pipiens y *Xenopus laevis* toleran por 30 días valores de 1500 -1600 ppb de cobre (Raplan y Yoh, 1961; Fingal y Raplan, 1963 en Freda, 1991). Sin embargo en *R. cyanophlyctis* valores de 100 y 200 µg de Cu por 40 días provocó un incremento en glóbulos blancos por 7 días con un posterior descenso además de una baja en el contenido de hemoglobina (Patil y Shivaraj, 1984).

En una zona donde se trabaja hierro en Polonia se encontró que el hierro no causó disturbios en el proceso metabólico del músculo e hígado de un sapo, pero si se observó cambios en la homogeneidad del tejido respiratorio a diferentes distancias del sitio contaminado (Pytasz *et al.*, 1980).

Ireland (1977) encontró altas concentraciones de plomo en riñón, huesos e hígado de *Xenopus laevis* pero bajos niveles en piel y músculo, este anfibio puede ser un gran transmisor de plomo en la cadena alimenticia.

En larvas de *Bufo arenarum* se comprobó que el plomo es dos veces más tóxico que el zinc (Hertkovits y Peres-Coll, 1991).

El examen histológico del cerebro de *Triturus cristatus* habitante de aguas contaminadas mostró la presencia de altos niveles de zinc, que dio inusual presencia de células en el primordio *hipocampi* de animales envenenados crónicamente (Taban *et al.*, 1982).

La fertilización y desarrollo en embriones de *Rana temporaria* se estudió en 36 estanques en Inglaterra, en altitudes de 183 a 617 metros sobre el nivel del mar. Varios de estos eran fríos, ácidos con elevadas concentraciones de iones de metales tóxicos. El aluminio inorgánico en elevadas concentraciones redujo el proceso de fertilización. La exposición a altas concentraciones de Al, incrementó el número de embriones anormales, esto se asocia con la incompleta absorción del vitelo durante la gastrulación (Beattie *et al.*, 1991).

Concentraciones de 39 - 80 ppm de Al en agua por 7 días se provoca la eclosión temprana en *Pseudacris regilla* y en *Ambystoma macrodactylum* ocasiona una reducción del tamaño corporal, en *Rana mucosa* y *Bufo canorus* tiene efectos subletales (Bradford *et al.*, 1994).

En *Rana temporaria* valores de 0.56 ppm de Al causan la infertilidad en el 90 % de los huevos encontrados en 21 estanques de Inglaterra con bajo pH (Beattie *et al.*, 1991).

Una alta concentración de Al puede producir irritación epitelial y alteración de la osmoregulación así como pérdida de electrolitos en plasma (por ejemplo Na y Cl) y la muerte cuando se pierde el 50 % (Freda y McDonal, 1990 en Freda, 1991).

Con base a los anteriores antecedentes se puede visualizar el efecto negativo de los metales pesados en variadas especies de anfibios del mundo ya sea de organismos extraídos del medio silvestre hasta aquellos que se han analizado en condiciones exclusivamente de laboratorio, practicando con diferentes concentraciones de metales sin que aun exista algún antecedente de este tipo de estudios en México, sobre todo de las poblaciones silvestres que se han visto sujetas a las actividades contaminantes del hombre. Se ha comprobado que la acumulación depende del tejido que se trate y de la vía de ingreso (cutánea o alimento).

Una vía de ingreso de los contaminantes hacia los organismos es a través de sus alimentos, es bien sabido que los anfibios son consumidores de insectos principalmente en su fase juvenil y adulta, en varios estudios se ha comprobado que los insectos son bioacumuladores de altas concentraciones de metales pesados que se encuentran en su medio (Walton, 1989).

METALES PESADOS EN ARTRÓPODOS

Los insectos tienen amplia distribución geográfica y ocurren en elevado número, y por lo tanto tienen alto contacto con químicos que contaminan el ambiente. También son considerados como potenciales indicadores de toxicidad, biodisponibilidad y bioacumulación de contaminantes ambientales (Walton, 1989).

Veleminsky *et al.*, (1990), consideran que las abejas de Checoslovaquia, se ven afectadas indirectamente por la contaminación del ambiente que afecta la cobertura vegetal que representa alimento a las abejas y directamente cuando la contaminación se fija en sus recursos alimentarios (polen, néctar, miel y agua).

En un bosque de Pennsylvania donde sapos y salamandras son raras o ausentes se encontró en el suelo altas concentraciones de plomo (2700 ppm), zinc (2400 ppm), cadmio (710 ppm) y cobre, (440 ppm). Varios grupos de invertebrados (lombrices, babosas y miriápodos) que se alimentan de detritus contenido en el suelo o de materia orgánica, tenían alta concentración de metales en comparación con otros invertebrados. Concentraciones de metales en diferentes organismos del mismo bosque alcanzaron valores altos como el caso del plomo en musarañas (110 ppm), seguido de las aves canoras (56 ppm), ratón (17 ppm), insectos carroñeros (14 ppm) y mariposas (4.3 ppm). Concentraciones de cadmio resultaron también ser altas en insectos carroñeros (25 ppm), musarañas (7.3 ppm), mariposas (4.9 ppm), ratones (2.6 ppm) y aves canoras (2.5 ppm). De igual manera las concentraciones de zinc y Cu fueron altas en los organismos que tuvieron altos valores de Cd. Resulto también que la contaminación por metales probablemente se debe a depositación aérea (Beyer *et al.*, 1985).

Se considera niveles de contaminación con 13 ppm en escarabajo carroñeros (Beyer *et al.*, 1985).

Janssen y Hogervorst (1993) determinaron las concentraciones de Ca, Cd, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn, en nueve especies de artrópodos terrestres y encontraron diferencias significativas entre las especies para todos los metales. El estudio muestra que las especies no pueden ser fácilmente categorizadas en acumuladores o no acumuladores; el patrón depende del metal.

Comparaciones entre las especies de dos lugares mostró bajas diferencias en las concentraciones de Ca, Cu, Mn, Zn y Pb, muestran grandes variaciones en algunas de las especies. Esto puede sugerir una baja regulación de las concentraciones de Hierro comparada con la de otros elementos esenciales. Las concentraciones de Ca

y Fe son bajas mientras que Cd es alto. Las desviaciones de este patrón pueden deberse parcialmente en las diferencias de intercambio o solubilidad de los elementos en agua (Janssen y Hervorst, op. cit.).

Experimentalmente se ha comprobado que en artrópodos la asimilación de Pb es baja comparada con el Cd. Los animales previenen la alta concentración de Pb a través de la pared del intestino por excreción rápida (Hopkin y Martin, 1984; Van Straalen *et al.*, 1987).

En insectos el Cobre es utilizado en el transporte de oxígeno. El zinc es un elemento esencial requerido en diferentes enzimas (Janssen y Hogervorst, 1993).

Se ha observado que algunos metales como el Fe, Zn y Mn se encuentran en altas concentraciones en ciertos agroquímicos y que estos presentan afinidad por proteínas y lípidos lo que les permite concentrarse en los seres vivos en donde se biomagnifican y a largo plazo afectan la salud de la fauna en general.

La mayoría de los autores coinciden en considerar a los anfibios como organismos particularmente sensibles a la contaminación del ambiente. Esto ha dado lugar a que se piense que puedan ser indicadores del grado de perturbación de los ecosistemas. Sin embargo, hasta este momento no se cuenta con evidencias suficientes para soportar esta hipótesis (Santos *et al.*, 1994).

La piel, las branquias y los huevos tienen superficies permeables que se encuentran en contacto directo con el ambiente por lo tanto son blancos fáciles para los tóxicos.

Considerando que *B. valliceps* es una especie de amplia distribución y que en Meztitlán ocupa un área rodeada por actividades agrícolas que hacen uso de gran cantidad de agroquímicos surgen varias interrogantes:

¿Cómo se está dando los valores de acumulación de metales pesados en los diferentes tejidos de organismos adultos de *B. valliceps*, en la zona agrícola de Meztitlán Hidalgo?

En el caso de que la madre esté acumulando metales ¿qué tanto transfiere a los embriones?

Si es una especie que presenta ciclo de vida complejo (acuático - terrestre), lo que les permite estar expuestos a los contaminantes en ambos espacios, ¿a que valores de metales pesados se está exponiendo durante su período acuático?

Al ser terrestre tiene más contacto con el sustrato que también suele ser depositario de los metales pesados, ¿qué valores de metales se están dando en el sedimento?.

Otra vía de probable ingreso es a través de los artrópodos que utiliza para alimentarse pero ¿qué tanta cantidad de metales ingresa por el alimento?.

Bufo valliceps no está considerado en algún estatus de vulnerabilidad, ni se ha comprobado que tenga problemas de declinación poblacional, sin embargo, se encuentra sujeta a las actividades del hombre en la zona agrícola de Mezitlán. Además tiene amplia distribución ya que se le encuentra en selva, zonas de dunas costeras, en semidesierto y áreas perturbadas, por lo que puede ser excelente para monitorear los niveles de metales pesados en el ambiente.

DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

CLASE: Amphibia
SUBCLASE: Anura
ORDEN: Salientia
SUBORDEN: Procoela
FAMILIA: Bufonidae
GENERO: *Bufo*
ESPECIE: *B. valliceps*

Bufo valliceps Wiegmann 1833

Etimológicamente el nombre de *vallis* (hueco) y *capt* (cabeza) se refieren a la cavidad longitudinal medio dorsal de la cabeza producida por las grandes crestas craneales.

Diagnosis. Anuro tropical y subtropical. Con crestas craneales desarrolladas, que producen una cavidad profunda en el centro de la cabeza, las crestas son relativamente altas, las crestas supraorbitales algunas veces más altas que las crestas parietales, la cresta postorbital forma un ángulo obtuso con la cresta supratimpánica corta y una serie lineal de prominentes verrugas a cada lado del cuerpo bordeado en su parte superior por una línea clara y por abajo por una banda oscura; una banda vertebral se presenta usualmente; en la reproducción el macho toma un color verde amarillento en la garganta. Las glándulas parotoides son relativamente pequeñas de forma subtriangulares a elipsoides, ovales a oblongas. El tamaño corporal varía geográficamente, en el norte (hembra 130 mm de LHC); los machos son más pequeños que las hembras. El llamado reproductivo presenta una frecuencia que varía de 1400 ciclos por segundo en el norte a aproximadamente a 2100 cps en el sur, el pulso cambia de rango de aproximadamente dos notas por segundo, por grado centígrado en la temperatura corporal y es de aproximadamente 38 notas por segundo a 25°C (30° a 46°C).

La combinación de crestas parietales bien desarrolladas y una serie lineal de verrugas a cada lado del cuerpo con una línea clara por arriba y una oscura por debajo además de una banda vertebral clara puede ayudar a distinguir a *B. valliceps* de otras especies simpátricas (Porter, 1970).

Distribución: Está sapo está ampliamente distribuido y se ha encontrado en tierras bajas de la ciudad de Calion, Arkansas al sur de todo Louisiana y a lo largo de el Golfo de México hasta el estado de Quintana Roo. Se encuentra en todo el Istmo de

Tehuantepec, pero no se le ha encontrado sobre la costa de el Pacífico al oeste del Istmo. En el extremo norte de Costa Rica, se distribuye ampliamente, se le localiza principalmente en tierras bajas hasta cerca de los 1800 msnm en muchos hábitats (Porter, 1970).

En el verano de 1960 se colectó *B. valliceps* de varias localidades a lo largo de las tierras costeras al este de la ciudad de Tehuantepec, a 22 millas (35.4 km) al este de la ciudad de Tonalá Chiapas. Estos hallazgos refutan la afirmación de Dullman en 1960, que estas especies no se encuentran sobre las tierras bajas del Pacífico del Istmo. También se ha encontrado en la vecindad de Tapachula Chiapas. *B. valliceps* se encontró en todos los drenajes (cuencas, ríos, desagües, etc.) de Chiapas y también a una altitud de 1200 metros a pocas millas al sur de Pueblo Nuevo en este estado. Firchein y Smith en (1957), también indicaron colectas en las regiones bajas del Golfo de Chiapas.

Mendoza (1990) registra por primera vez para la barranca de Meztilán a *Bufo valliceps* a 1236 msnm.

OBJETIVOS

A) Determinar las concentraciones de los metales zinc, plomo, cadmio, manganeso, cobre, hierro y aluminio en huevos oviductales de *Bufo valliceps*.

B) Determinar los valores de los metales Zn, Pb, Cd, Mn, Cu, Fe, y Al. que se incorporan vía alimentación y su relación con los valores de los tejidos de *Bufo valliceps*.

C) Establecer los niveles de bioacumulación de Zn, Pb, Cd, Mn, Cu, Fe y Al. en las diferentes fases de desarrollo, así como en algunos tejidos de *Bufo valliceps* con respecto a los valores de los metales en agua y sedimento en la Zona Agrícola de Meztitlán Hidalgo.

D) Comparar los resultados con otros estudios de toxicidad en anfibios para establecer el probable efecto que pudiera estar sufriendo la población de *B. valliceps* en la Zona agrícola de Meztitlán Hgo.

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

UBICACIÓN

El Estado de Hidalgo se sitúa en la parte central de la República Mexicana, en la región oriente al sur de la Altiplanicie, ocupa sólo el 1.06 % del total del territorio mexicano. La zona de estudio se localiza en el municipio de San Juan Meztlán en la porción Centro-Este del estado de Hidalgo; entre los 20° 40' y 20° 41' latitud norte y los 98°46' 30' y 98° 52' 2" longitud oeste, a 1200 metros sobre el nivel del mar (SPP, 1983). Limita al norte con los municipios de Eloxochitlán, Molango y Xochiatlán, al sur con Atotonilco, Actopan y Santiago; al este colinda con los municipios de Zacualtipan y Mezquititlán en tanto que al oeste se encuentra limitado con el municipio de Cardonal (Cantú, 1953). Particularmente, el área de estudio se ubica entre los poblados de Hualula y San Cristóbal, comprendiendo parte del fértil valle agrícola conocido como la Vega de Meztlán (Fig. 1)

FISIOGRAFÍA

El área de estudio se encuentra incluida en la provincia de la Sierra Madre Oriental, la cual se extiende paralela a la costa del Golfo de México desde sus inicios en la frontera norte hasta los límites con el Eje Neovolcánico, en las cercanías de Pachuca, Hidalgo (INEGI, 1992).

La zona de estudio pertenece a la subprovincia del Carso Huasteco y de acuerdo al sistema de topoformas propuesto por INEGI (1992), está constituida por un sistema de cañón y un valle de laderas tendidas. Ambos sistemas son de origen sedimentario siendo resultado directo de la erosión fluvial. El cañón se conforma litológicamente por caliza y presenta pendientes moderadas, mientras que el valle está constituido por caliza aluvión con pendientes suaves.

GEOLOGÍA

La morfología de la región da evidencia de episodios complejos de deformación en la secuencia rocosa que la conforma, lo cual obedece a una tectónica regional que junto con el fracturamiento ha causado líneas de debilitamiento, aunado a ello, la erosión vertical ha ejercido una influencia notable en la zona dando origen a la barranca y a los arroyos secundarios laterales (Cantú, 1953). Estudios paleográficos indican que durante el Mesozoico, esta región se encontraba cubierta por agua marina lo que se comprueba por la existencia de calizas sedimentarias compactadas en el seno marino así como por el registro fósil de Amonitaceas que probablemente pertenecieron al Jurásico superior (Sánchez Mejorada, 1977).

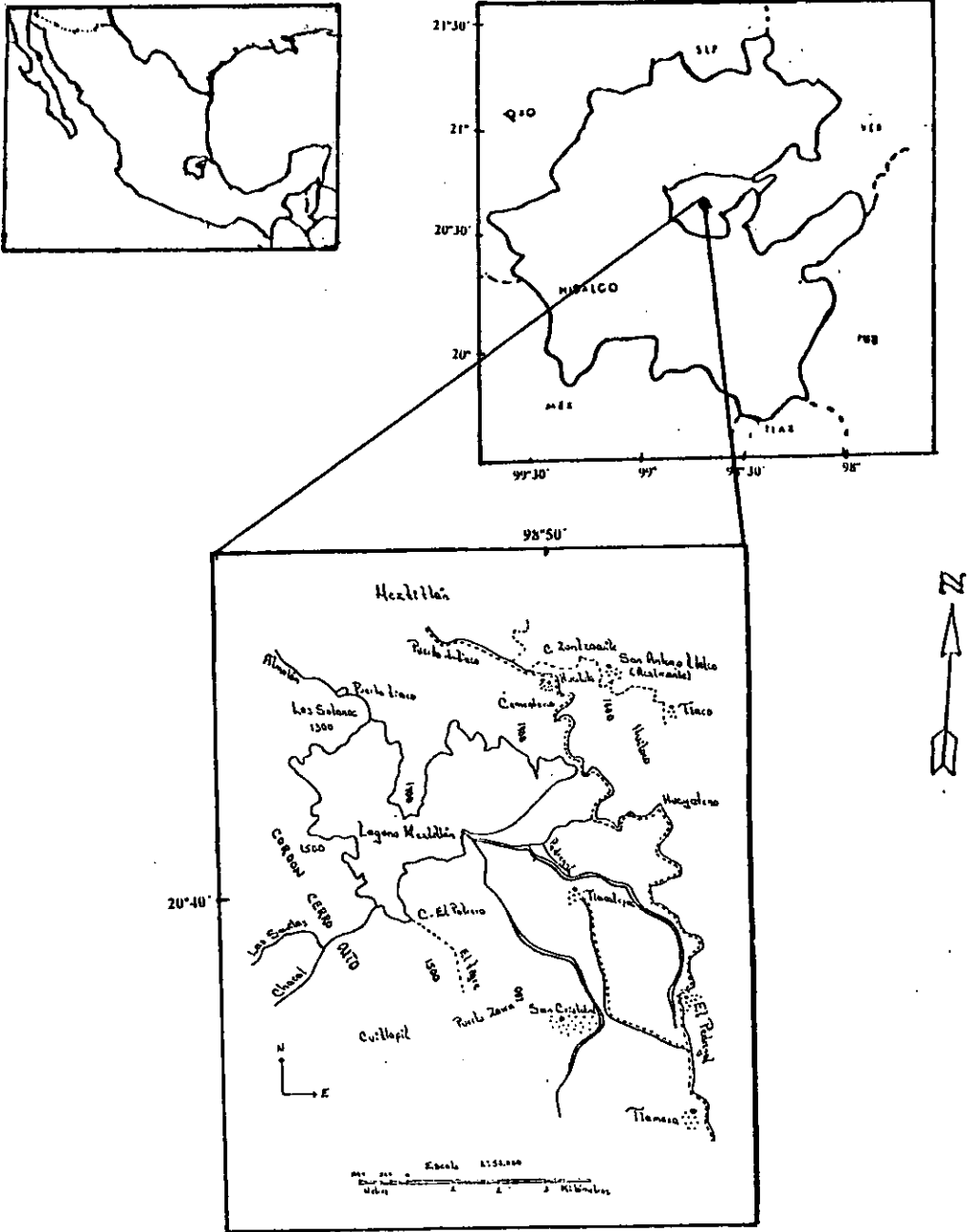


Figura 1. Localización del área de estudio.

Movimientos orogénicos posteriores elevaron los sedimentos marinos ya mencionados plegándolos de una manera espectacular. De esta manera la profunda incisión de la Barranca de Meztitlán y el Valle del Almolón esta cortada en terrenos de calizas y margas pizarras del Cretácico que han sufrido fuertes trastornos tectónicos por fractura e intensos plegamientos (Cantú, 1953). Las margas pizarras probablemente pertenecieron al Cretácico medio e inferior, se presentan en la zona superior de la Vega de Meztitlán (Sánchez Mejorada, 1977).

A pesar de que las calizas mesocretácicas de los alrededores de la laguna han sido las menos afectadas por los movimientos tectónicos, las fallas y dislocaciones han sido suficientes para originar el resquebrajamiento local de estas calizas desarrollando en ellas fenómenos cárscicos como cuevas, ríos y hundimientos (Cantú, 1953).

HIDROLOGÍA

La laguna de Meztitlán, situada hidrológicamente en la región número 26; forma parte de la cuenca del alto Pánuco y por desembocar en el Golfo de México, pertenece a esta vertiente. Los principales ríos de esta cuenca son el Meztitlán, Almolón y Amajac de los cuales, los dos primeros confluyen en el área de estudio.

El río Meztitlán se origina en la parte norte del estado de Puebla, a 6 km del límite con Hidalgo. La Barranca de Meztitlán, sirve de cauce a este río, por lo que fluye en un cañón que en algunos puntos alcanza profundidades de importancia. El río tiene una longitud aproximada de 110 kms. y una anchura media de 26 m siguiendo una dirección sursureste a nor-noroeste terminando su curso en la laguna de Meztitlán cuyo nivel de agua se encuentra normalmente a 1233 m.s.n.m. y tiene una capacidad de 650 millones de metros cúbicos (Bol. hidrol., 1970).

Al carecer la laguna de salidas naturales y dada su extensión y profundidad, en época de lluvias, se inundaban tierras y poblados cercanos a sus riberas, por esta razón, se perforaron dos túneles que desahoran la laguna. Asimismo, estas filtraciones que brotan a través del Cerro del Tajo, alimentan con sus desagües al río Almolón.

Este río de aproximadamente 9 km de longitud, hace su recorrido encajonado en su trayecto hasta su afluencia con el Amajac.

Desde su origen, este río toma dirección noroeste hasta el poblado de Almolón, donde cambia su curso al oeste hasta su confluencia con el Amajac.

CLIMA

De acuerdo al sistema de clasificación climática de Köppen modificado por García (1971) el clima de Meztitlán es B So h w' (w) (i') g ; es decir que corresponde a un clima seco del subtipo semicálido con régimen de lluvias en verano y poca oscilación térmica (5 a 7°C). La temperatura media anual en la zona es de 20.2°C con una temperatura máxima de 23°C registrada en el mes de mayo y una temperatura mínima de 16.1°C para el mes de enero (Fig. 2) en cuanto a la precipitación promedio anual es de 427.4 mm presentando un valor máximo en Septiembre con 105.1 mm y un valor mínimo de 2.8 mm en el mes de febrero (Fig. 2).

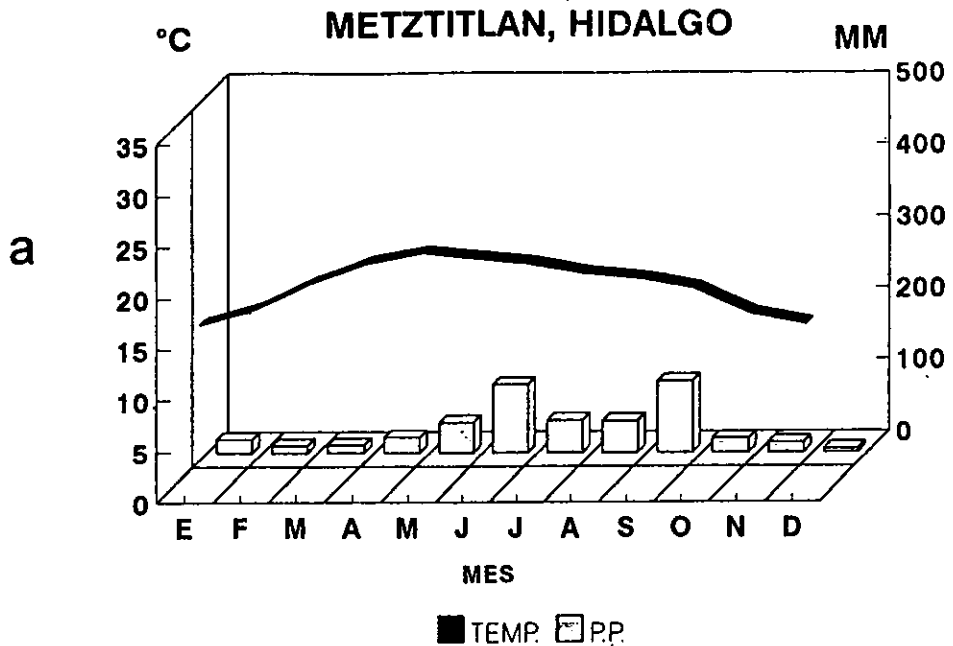


Fig. 2. Climograma de la región de Meztitlán Hidalgo.

EDAFOLOGÍA

De acuerdo a la carta edafológica de la SPP (1983) en la zona de estudio se distinguen 4 unidades edafológicas; Fluvisol, Foezem, Regosol y Litosol las cuales se encuentran asociadas de la siguiente manera: En la zona de la Vega, se ubica como suelo principal Fluvisol calcárico y como suelo secundario Foezem calcárico. En la porción este de la laguna de Meztilán, el suelo principal es el Regosol calcárico y el secundario es el Litosol. Ambas asociaciones presentan una clase textural media lo que indica que la superficie es parecida a los limos de los ríos, presenta pocos problemas de drenaje y aireación (INEGI, 1990).

Respecto a las condiciones del terreno, este se caracteriza por la abundancia de fragmentos de roca o material cementado formando suelos someros que impiden la penetración de raíces constituyendo así la fase lítica profunda.

Por su parte, la fase química alude a la presencia de sustancias químicas solubles en el suelo, aunque no se reporta en las cartas edafológicas, Cantú (1957) menciona una fase ligeramente salina.

VEGETACIÓN

En la zona baja de las cañadas se localiza el matorral xerófilo o crasicaule. Entre los 600 a 1750 msnm. Se encuentran los elementos arbustivos, subfrutescentes y herbáceos y que se distribuyen de acuerdo al tipo de suelo en grupos ecológicos definidos destacando: *Acacia farnesiana*, *A. shaffneri*, *Salix bonplandiana*, *Helenion sp.*, *Eupatorium picnocephalum*, *Siegesbeckia jorullensis*, *Bidens osttruthioides*, *Tillandsia recurvata*, *Lemaireocereus dumortieri*, *Stevia saliciforme*, *Ficus sp.*, *Bursera morelensis*, *B. fagaroides*, *Mimosa buincifera*, *Mamilaraia sp.*, *Opuntia imbricata*, *Agave diformis*, *Selaginella leoidophilla* y *Yuca filifera* (Mendoza, 1990).

La agricultura es una de las principales actividades económicas. En la Vega, existen zonas de agricultura, de riego con carácter anual, temporal, permanente y semipermanente en las que se cultivan papa, jitomate, tomate, cebolla, chile y algunas otras hortalizas además de frutas como papaya y mango. Es común el uso de todo tipo de agroquímicos tanto para la fertilización como para proteger los cultivos contra insectos.

DATOS SOCIOECONÓMICOS

Se caracteriza por la dispersión de sus habitantes ya que en 126.9 Km² únicamente se asientan seis localidades con una población total de 1,940 habitantes. La mayoría de la población, depende de la Vega de Meztlán (Zona de influencia), ya sea porque es ahí donde venden su fuerza de trabajo, o porque en ella obtienen los bienes y servicios que no encuentran en sus comunidades. El principal motor de la economía de la región es la agricultura, la cual no alcanza a generar el suficiente número de empleos para toda la población, así mismo los bajos niveles de ingreso, y la carencia de satisfactores básicos, han propiciado una fuerte emigración de la población joven en busca de empleo. Por este motivo, el crecimiento de la población es lento o incluso nulo en algunas localidades (INEGI, 1992).

La ganadería no constituye la principal fuente de ingresos, el trabajo que se realiza con el ganado vacuno, ovino y caprino es marginal y corresponde a los niños, mujeres y ancianos, el cuidado y las inversiones son mínimas.

La pesca cobró mayor importancia a partir de la introducción de la carpa y la tilapia a las aguas de la laguna de Meztlán, la actividad la realizan los ejidatarios que carecen de tecnología, equipo y crédito para operar. No obstante recientemente recibieron apoyo por parte de el gobierno estatal y municipal para la adquisición de lanchas. No tienen asistencia técnica y recursos crediticios que impulsen el cultivo de peces y el establecimiento de medidas propias para capturar el volumen de individuos con la edad y tallas adecuadas, que permitan el desarrollo sostenido de la actividad.

La actividad industrial, comercial y de servicios están desarrollados, sin embargo, el turismo de fin de semana ha cobrado mayor fuerza recientemente, el atractivo lo constituye el paisaje de la laguna, pero además la venta de pescado en los restaurantes que se encuentran a la orilla de la carretera que une con Hualula.

MÉTODOS

Se llevaron a cabo 6 salidas al campo (Laguna y Zona Agrícola de Meztlán Hgo.) con una duración de 3 días en los meses de Septiembre de (1994) a Marzo (1995), ya que es la época de mayor actividad de la especie *Bufo valliceps*. Se obtuvieron los siguientes organismos:

	LONG. HOCICO-CLOACA PROMEDIO (mm)	PESO PROMEDIO DE CADA ORG. (gr.)	CARÁCTERÍSTICAS	No. ORGANISMOS
Adultos	65.8	27.3	Organismos bien formados que presentan crestas craneales desarrolladas, que producen una cavidad profunda en el centro de la cabeza y una serie lineal de verrugas a cada lado del cuerpo con una línea clara por arriba y una oscura por debajo además de una banda ventral clara.	18
Juveniles	14.2± 2.38	0.21± 0.8	Igual que los adultos pero de talla pequeña.	5

	LONG. TOTAL (mm).	PESO (gr.)	CARÁCTERÍSTICAS	No. ORGANISMOS
Larvas Estadio I	15±1.0	0.04	Cuerpo y cola poco desarrollados	22
Larvas Estadio II	19±1.0	0.07	De mayor tamaño y cola muy desarrollada	29
Larvas Estadio III	21±1.0	0.11	Extremidades posteriores presentes	8

Después de capturados se mantuvieron en estado de latencia a una temperatura de 4°C y fueron transportados al laboratorio (Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad del Estado de Hidalgo UAEH).

Para establecer la relación organismo y su hábitat, se tomaron muestras de agua y sedimento. Con botellas de vidrio lavadas previamente con una solución de HCl y HNO₃ al 50%. Una vez limpios se enjuagaron con abundante agua desionizada,

para evitar interferencias de metales contenidos en los recipientes y que estos alterasen los resultados (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

Se determino la temperatura y pH del agua y sustrato, posteriormente se tomaron las muestras de agua y sedimento a una profundidad de 20 cm.

Para determinar los metales disueltos en el agua se tomaron 7 muestras de 1/2 litro de agua (cada una) a lo largo de el estudio en los sitios donde se observo mayor actividad del bufo.

En el caso de los sedimentos se tomaron 7 muestras de lodo de 1/2 kilo (c/u) y 2 muestras de tierra seca a lo largo de el estudio en los sitios donde se observo mayor actividad del bufo.

Para conocer los agroquímicos utilizados en la zona de estudio, durante los recorridos de campo se recolectaron los recipientes de los agroquímicos que fueron observados en los campos de cultivo y en la cercanía de la laguna de Meztlán.

Para evitar que algunos cationes se perdieran por adsorción en las paredes de los envases de vidrio o por intercambio iónico, y reducir al máximo la precipitación y adsorción en las paredes del envase, las muestras se acidificaron con 5 ml. o más de ácido nítrico hasta obtener un pH inferior a 2,0 (APHA-AWWA-WPC, 1992).

Para transportar las muestras contenidas en los envases se empaquetaron en cajas acolchonadas de plástico, con hielo molido, las cajas se recubrieron con material aislante para evitar rupturas.

Para reducir al máximo la posible volatilización o biodegradación entre el momento de hacer la toma y la cuantificación de los metales, se mantuvieron las muestras a 4°C sin que llegaran a la congelación (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

Se trabajó en condiciones estrictamente controladas, a fin de obtener resultados significativos y reproducibles, manteniendo constante el volumen de la muestra, el volumen de ácidos y el tiempo de contacto en el momento de realizar las digestiones.

En el laboratorio (UAEH), se disectaron los tejidos de cada organismo (muscular, cardíaco, hepático, renal y cuerpos grasos) y huevos oviductales, además del contenido estomacal.

El contenido estomacal se colocó en una caja de petri y se separaron los elementos con ayuda de un microscopio estereoscópico. Se conformó de

artropodos principalmente por lo que se identificó a nivel de Familia con ayuda de claves especializadas (Jacques, 1947; Borror y White, 1970; Borror *et al.*, 1981; Arnett y Jacques, 1981 y Chinery Michael, 1977).

Una vez obtenidos los tejidos y contenido estomacal, se liofilizaron a una temperatura de -60°C y a un vacío de 5 μ torricelis en un liofilizador marca LABCONCO.

Los tejidos liofilizados fueron sometidos a una digestión ácida para su posterior determinación de metales en base húmeda (ppm) por Espectroscopía de Emisión en Plasma.

Para reportar los resultados en base húmeda se tomo el porcentaje de humedad mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso Húmedo} - \text{Peso Seco}}{\text{Peso Húmedo}} \times 100$$

DIGESTIÓN POR ÁCIDO NÍTRICO Y ÁCIDO PERCLORICO

El procedimiento de digestión ácida es usado para la preparación de muestras, en la determinación de muchos elementos metálicos en plantas como tejidos animales, incluyendo potasio, calcio, estroncio y cobalto. Este método puede utilizarse también para elementos que son volátiles.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS:

I.-TEJIDOS

Se pesaron 0.2 g de muestra, el cual se colocó dentro de un vaso de 500 ml, se le adicionó 5 ml de HNO₃ destilado, se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó ligeramente sin llegar a la ebullición por 30 - 45 minutos, se dejó enfriar la solución y se le adicionó lentamente 1 ml de HClO₄ al 70 %, se calentó a una temperatura de 110°C hasta quedar sin color, cuidando de que la solución no llegará a sequedad.

Se dejó enfriar y se recuperó la muestra enjuagando con agua desionizada, el vaso y el vidrio de reloj y se aforó a 50 ml en un matraz volumétrico, se guardaron las muestras en frascos perfectamente cerrados, para su posterior lecturas de los metales: Pb, Zn, Cd, Mn, Cu, Fe y Al en el Espectrofotómetro de Emisión en

Plasma (PERKIN ELMER, 1982). Para obtener el valor real en ppm, se calculo mediante la siguiente formula :

Para muestras solidas.

$$\text{Elemento (mg/g)} = \frac{(C) (V) (d. f.)}{(W)} = \text{ppm}$$

Donde :

C = Concentración del elemento en la muestra en solución (mg/l).

V = Volumen de la muestra no diluida en solución (ml)

W = Muestra en gramos.

Volumen de la muestra diluida en solución (ml)

$$d.f. = \frac{\text{Volumen de la muestra diluida en solución (ml)}}{\text{Vol. de la alícuota tomada para la dilución (ml)}}$$

II.- SEDIMENTO

Se pesaron 100 gr. de cada muestra la cual se colocó en una bolsa de polietileno, después se colocó en un horno a una temperatura de 68 a 75°C aproximadamente durante 5 días hasta llegar al secado. Una vez secas las muestras se maceraron y se tamizaron en una malla de 250 mm (Contreras, 1992).

Se tomo una muestra tamizada de 0.2 gramos y se sometió a digestión siguiendo el método utilizado en tejidos. En este caso se filtró la muestra antes del aforo, porque no se llegó a desintegrar los silicatos ya que estos obstruyen el capilar de inyección de muestra en el espectrofotómetro de emisión en plasma.

III.- AGUA

METALES DISUELTOS: Se filtraron 500 ml de agua. El líquido fue pasado por un algodón y a través de una membrana de 0.45 µm, se colecto el filtrado y se le adicionó 5 ml de HNO₃ para preservar la muestra antes de su lectura (Helrich, 1990). Para obtener el valor real se calculo mediante la sig. formula.

Muestras líquidas :

Elemento (mg/l) = (C) (d.f.) = ppm

Donde :

C = Concentración del elemento en la muestra en solución (mg/l)

$$\text{d.f.} = \frac{\text{Volumen de la muestra diluida en solución (ml)}}{\text{Volumen de la alcuota tomada para la dilución (ml)}}$$

Una vez obtenidas todas las muestras se procedió a tomar la lectura de los metales (base húmeda) por triplicado: Zinc, Plomo, Cadmio, Manganeso, Cobre, Hierro y Aluminio, en el Espectrofotómetro de Emisión en Plasma (mg/l).

Se estandarizo las unidades en **ppm** para comparar los resultados obtenidos en las muestras líquidas y sólidas (ver Anexo II).

DETERMINACIÓN DE METALES POR ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN DE PLASMA

Es aplicable en la determinación de 73 elementos traza, a concentraciones de 0.8 µg/l

Principio: Una fuente de plasma de acoplamiento inductivo, consiste en una corriente de flujo de gas argón ionizado por aplicación de un campo de radiofrecuencias típicamente oscilante a 27.1 Mhz. Este campo está acoplado inductivamente al gas ionizado por una bobina refrigerada con agua que rodea a una lámpara de cuarzo que soporta y confina el plasma. En un apropiado nebulizador y cámara de pulverización se genera un aerosol de la muestra que se lleva al plasma a través de un tubo inyector colocado dentro de la lámpara. El aerosol de la muestra se inyecta directamente en el Plasma de Acoplamiento Inductivo (PAI), que somete a los átomos que los componen a temperaturas de aproximadamente 6.000 a 8.000 °K. Debido a ello, tiene lugar una disociación de moléculas casi completa, consiguiéndose una reducción significativa de interferencias químicas. La elevada temperatura del plasma evita eficazmente la emisión atómica. La ionización de un elevado porcentaje de átomos produce un

permite una determinación multielemental de metales. La luz emitida por el PAI se enfoca sobre la rejilla de entrada de un monocromador o policromador que efectúa la dispersión. Se utiliza una rejilla de salida alineada con precisión para aislar una parte del espectro de emisión, para medida de la intensidad empleando un tubo fotomultiplicador. El monocromador utiliza una única rejilla de salida/fotomultiplicador y puede emplear un mecanismo de exploración controlado por un ordenador para examinar secuencialmente las longitudes de onda de emisión. El policromador utiliza rejillas de salida fijas múltiples y los correspondientes tubos fotomultiplicadores; supervisa todas las longitudes de onda configuradas utilizando un sistema de lectura de salida controlado por ordenador. El procedimiento secuencial proporciona mayor selección de longitudes de onda, mientras que el procedimiento simultáneo puede proporcionar mayor capacidad de muestra Fig. 3) (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

El Espectrofotómetro en Plasma por acoplamiento inductivo, marca PERKIN ELMER modelo Optima 3000 XL a través de una muestra nos da tres lecturas con su respectiva media, desviación estándar y coeficiente de variación.

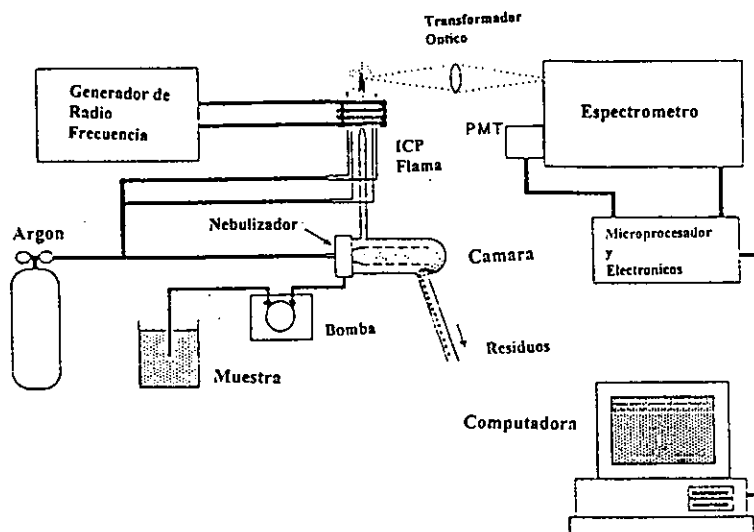


Figura 3.- Esquematación del funcionamiento del Espectrofotómetro de Emisión en plasma.

TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Se registraron los valores promedio de cada Bufo en cada tejido (músculo, hígado, riñón y corazón) por cada metal y estadios larvales, huevos oviductales, contenido estomacal y cuerpos grasos y se determinó el valor medio y su desviación estándar.

Para el agua y sedimento también se determinó el valor medio y desviación estándar, para el total de muestras.

Se aplicó un análisis de varianza multivariado (MANOVA) para distinguir las diferencias entre las concentraciones medias de un metal específico entre los diferentes tejidos donde la LHC se usó para reducir la variación entre medias y desviación en el tamaño de el cuerpo, con el paquete estadístico STATGRAPHICS Versión 3.0. Seguido de una prueba de Duncan (Sokal y Rohlf, 1981)

Para establecer la bioconcentración de los diferentes metales en cada tejido y en los diferentes estadios de desarrollo (huevo, larva, juveniles y adultos) se calculó un Índice de Bioacumulación (IB) dividiendo la concentración de cada tejido y/o fase de desarrollo entre la concentración encontrada en agua, suelo y contenido estomacal, respectivamente (Janssen y Hogervorts, 1993)..

$$IB : \frac{\text{Concentración Tejido o Fase de desarrollo}}{\text{Concentración metal en el medio (agua , suelo o contenido estomacal)}}$$

El índice de bioacumulación (IB) muestra tres parámetros: si el valor es 1 quiere decir que la concentración del metal es similar entre el tejido o estadio de desarrollo y la encontrada en el medio (agua, suelo, contenido estomacal).

Valores por arriba de uno muestra que los tejidos o estadios larvales sobrepasan los valores del medio y los valores abajo de 1 indica menor concentración con respecto al medio.

Para conocer los diferentes componentes alimentarios en los que puede ingresar metales en *B. valliceps*, se procedió a retirar el estomago de cada organismo el cual se colocó en una caja petri y con ayuda de un microscopio estereoscópico se separaron los elementos que se identificaron hasta la categoría taxonómica de

familia y el estadio de desarrollo (Adulto, Larva, Ninfas) para así conformar la "Familia-Presa" (Gutiérrez y Sánchez, 1986); con ayuda de claves especializadas (Arnett y Jaques, 1981; Borror y White, 1970; Borror *et al.*, 1981; Peterson, 1960).

Para cada familia se determinó el número de organismos y el peso húmedo (0.1 gr.).

Se utilizó el valor de importancia alimentaria (Acosta, 1982) que considera los tres parámetros esenciales en los estudios de alimentación, a sí es como determina la importancia de determinado elemento en la dieta de el organismo.

1.- Abundancia Relativa, definida como la proporción de cada categoría de presa con respecto al total.

2.- Volumen porcentual, que es el porcentaje en peso que representa cada elemento con respecto al total.

3.- Frecuencia de ocurrencia, estimada como el número de estómagos en los que aparece un determinado elemento.

$$V. I. = V'_{ij} + N'_{ij} + F'_{ij}$$

Donde: $V'_{ij} = V_{ij} / \Sigma V_{ij}$

$N'_{ij} = N_{ij} / \Sigma N_{ij}$

$F'_{ij} = F_{ij} / N_j$

V. I. = Valor de Importancia.

V_{ij} = Vol. del i del elemento alimenticio (a) en el j depredador.

ΣV_{ij} = Vol. total del contenido estomacal.

N_{ij} = No. de elementos del i elemento alim. (a) en el j depredador.

ΣN_{ij} = No. total de elementos de la muestra.

F_{ij} = No. de contenidos estomacales donde se presenta el i elemento alim. del j depredador.

N_j = No. total de contenidos estomacales del j depredador

Los valores de V.I. varía de 0 a 3, se consideraron como importantes en la dieta, aquellos que presentaron, valores arriba del 0.1 se consideraron como fundamentales en la dieta de los organismos.

RESULTADOS

AGUA

El agua de la laguna de Metztlán presentó durante el periodo de muestreo un pH de 7, considerado como neutro, y una temperatura promedio de $18 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$. Al analizar las concentraciones de los diferentes metales solubles en agua, se encontraron diferencias significativas ($F(6,48) = 3.89, P < 0.05$). Las concentraciones menores correspondieron a el zinc, plomo, cadmio, manganeso y cobre (Fig. 4). El Aluminio presentó una concentración significativamente mayor; sin embargo, el Fe alcanzó los valores más altos con respecto a los demás metales.

SEDIMENTOS

Existe diferencias significativas en las concentraciones de los diferentes metales en sedimento ($F(6, 69) = 71.05, P < 0.05$), (Fig. 5). No se detectó la presencia de Zn y Cu, se encontraron valores mínimos de Pb y Cd. Se encontró a el Mn con una elevada concentración. Sin embargo, los metales que se presentan con valores de miles de ppm son Fe y Al, (Fig. 6) siendo el último el que se presenta con mayor concentración.

CONTENIDO ESTOMACAL

Al analizar los contenidos estomacales de *Bufo valliceps* se identificó un total de 14 familias presa, de las cuales sobresalen de acuerdo al valor de importancia alimentaria las familias Gryllidae (1.1935) y Formicidae (1.16), Aranae (0.80) y los Scarabeidae (0.4739), (Cuadro 1).

Cuadro 1. Valor de Importancia Alimentaria de las Familias-Presa de *Bufo valliceps* en Metztlán Hidalgo.

FAMILIAS-PRESA	VALOR DE IMPORTANCIA
1.- Gryllidae	1.1935
2.- Formicidae	1.1591
3.- Aranae	0.8006
4.- Scarabeidae	0.4739
5.- Coccinellidae	0.443
6.- Tenebrionidae	0.3948
7.- Dermáptera	0.1993
8.- Vespidae	0.1685
9.- Phyrrocoridae	0.1007
10.- Staphylinidae	0.0904
11.- Curculionidae	0.07
12.- Cydnidae	0.0697
13.- Elateridae	0.0697
14.- Carabidae	0.0697

Al analizar los metales pesados se encontró que existen diferencias significativas en las concentraciones de los metales en los elementos del contenido estomacal ($F(6,117) = 9.20, P < 0.05$), que se compone de artrópodos principalmente; como se observa en la Fig. 7, existe un primer grupo con las concentraciones menores que correspondieron al Cd, Pb, Cu, Mn y Zn. Un segundo grupo lo conforman Al y Fe con concentraciones significativamente mayores dentro del contenido estomacal (Fig. 8).

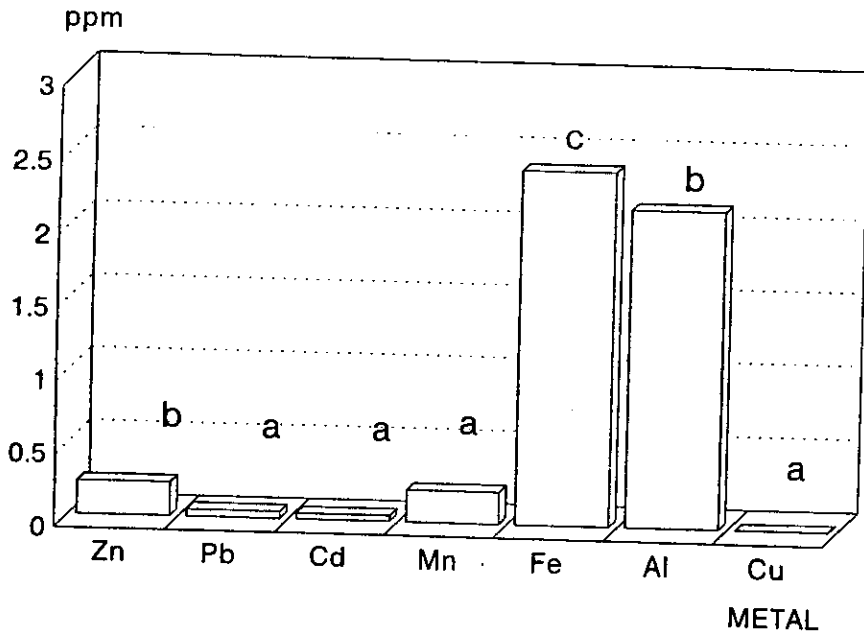


Figura 4.- Concentraciones promedio de metales disueltos en Agua. Las letras arriba de las columnas corresponden a las diferencias significativas, con $P < 0.05$ de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan. (Zn) zinc, (Pb) plomo, (Cd) cadmio, (Mn) manganeso, (Fe) fierro, (Al) aluminio y (Cu) cobre. Las indicaciones son las mismas para el resto de las figuras a menos que se indique lo contrario. Para las desviaciones estandar ver Anexo 1

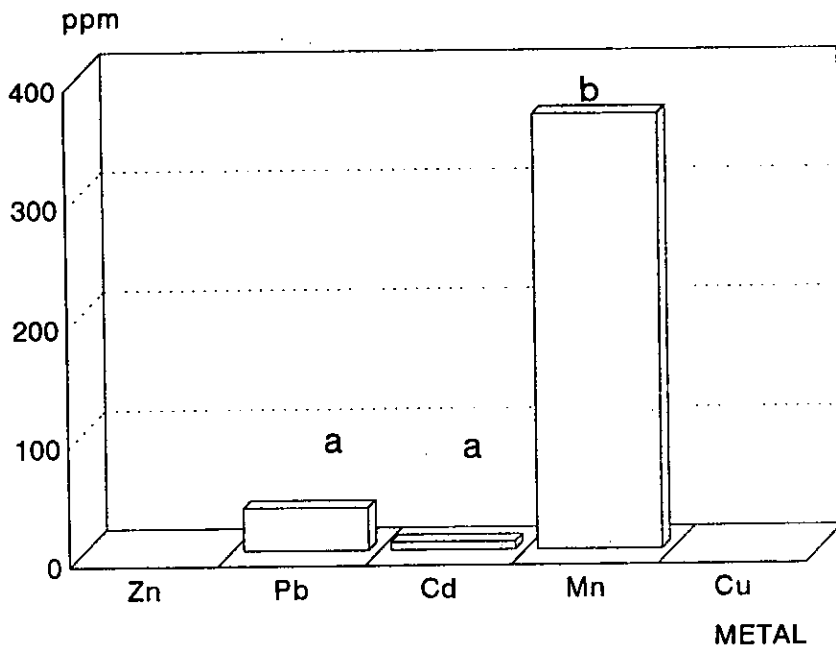


Figura 5.- Concentración promedio de los metales zinc, plomo, cadmio, manganeso y cobre en Sedimentos.

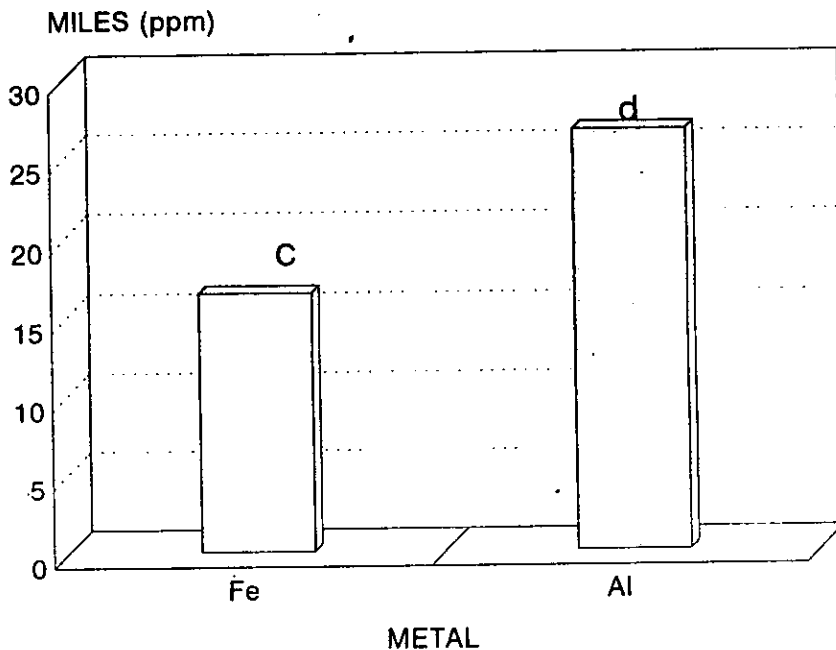


Figura 6.- Concentración promedio de hierro y aluminio en sedimentos.

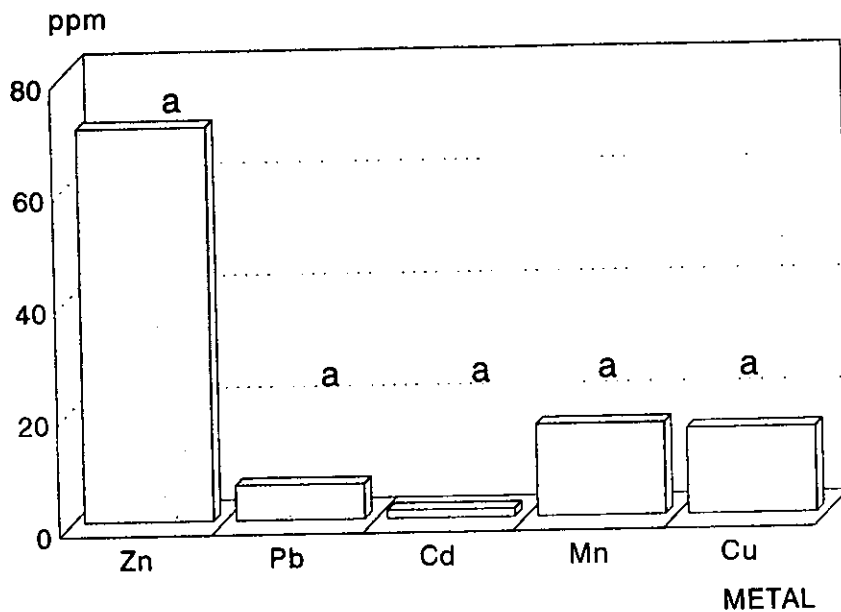


Figura 7.- Concentraciones promedio de los metales zinc, plomo, cadmio, manganeso y cobre en Contenido Estomacal.

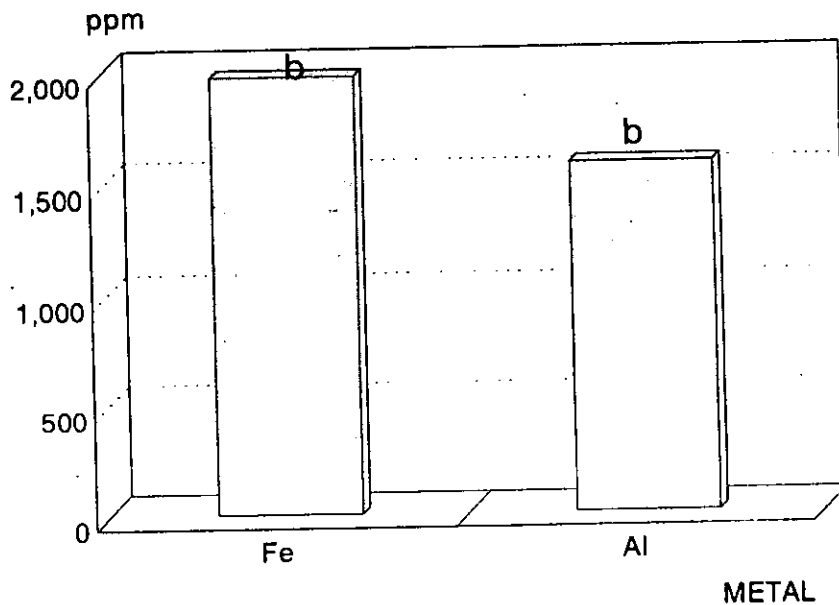


Figura 8.- Concentraciones promedio de los metales fierro y aluminio en Contenido Estomacal.

USO DE AGROQUÍMICOS

De los envases colectados, se encontraron en mayor proporción (44.4%) los fungicidas. Entre los compuestos químicos que los conforman están el azufre, fierro, zinc, cobre, manganeso y otros; le continua en porcentaje los insecticidas (33.3 %) los cuales presentan en su composición Metomil y por ultimo los fertilizantes (22.2%), los componentes que los constituyen son el fierro, zinc, calcio, azufre, cobre, cobalto entre otros (Cuadro 2).

Cuadro 2. Agroquímicos utilizados en las inmediaciones de la Laguna de Mezquital, Hidalgo.

NOMBRE	USO	TOXICIDAD	APLICACION	COMPOSICION
NUTRIPLANTS PLUS (LIQUIDO)	FERTILIZANTE FOLIAR COMPLETO	LIGERAMENTE TOXICO	PARA CULTIVOS BASICOS HORTALIZAS, FRUTICULTURA Y FOLICULTURA EN GENERAL	NITROGENO 110% FOSFATOS 80% POTASIO 60% FIERRO 10% ZINC 10% BORO 0.4% CALCIO 0.25% MAGNESIO 0.25% COBRE 0.4% MANGANESO 0.4% MOLIBDENO 0.05% ACIDO HUMICO 3.10%
PREVICUR N (LIQUIDO)	FUNGICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	PREVIENE Y PROTEGE LOS CULTIVOS CONTRA EL ATAQUE DE HONGOS OOMICETOS: ESTIMULA CRECIMIENTO DE PLANTAS	PROPANO CARB CLORHIDRATO PROPIL (3-DIMETILAMINO PROPIL CARBAMATO MONOHIDROCLORHIDRO
DECIS 2.6 C.E. (LIQUIDO)	INSECTICIDA CONCENTRADO	LIGERAMENTE TOXICO	PARA PLAGAS DE CULTIVOS: ALGODON, SOYA, SORGO, PAPA, GARBANZO, MAIZ, TABACO, JITOMATE Y FRIJOL	DELTA METRINA (S)ALFA-CIANO-3-FENOXIBENCIL 2.2 DIBROMOVINIL 2.2 DIMETIL-CICLOPROPANOCARBIXILATO
AGRI-MYCN 500 POLVO (HUMECTABLE)	FUNGICIDA BACTERICIDA DE ACCION SISTEMICA	LIGERAMENTE TOXICO	CULTIVOS DE PERAL Y ENFERMEDADES	SULFATO DE ESTREPTOMICINA CLORHIDRATO DE OXITETRACICLINA SULFATO TRIBASICO DE COBRE MONOHIDRATADO

Cuadro 2. Continuación.

SAGASUL (POLVO)	FUNGICIDA Y ACARICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	CULTIVOS: TOMATE, ALFALFA, ALGODON, CEMPASUCHIL, CHICHARO, FRIJOL, SOYA, CACAHUATE, GARBANZO, CUCURBITACEAS (MELON, SANDIA, CALABAZA, PEPINO, FRESAS, PAPA, FRUTALES Y ORNAMENTALES.	AZUFRE HUMECTABLE 63% FIERRO SOLUBLE ZINC SOLUBLE
FUNGISAN (POLVO)	FUNGICIDA AGRICOLA	LIGERAMENTE TOXICO	CUCURBITACEAS, FRIJOL, PAPA, TABACO, TOMATE, FRUTALES Y CITRICOS.	OXICLORURO DE COBRE CON UN CONTENIDO DE Cu METALICO COMO ELEMENTO <59%
MANCOZEB (POLVO)	FUNGICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	ALGODON, APIO, AVENA, CEBADA, TRIGO, CACAHUATE, CAFE, CEBOLLA, ETC.	ZINC Y ETILEN-BIS-DITIOCARBAMATO (62%) MANGANESO 6% ZINC 2%
LANNATE (POLVO)	INSECTICIDA	EXTREMADAMEN TE TOXICO (PUEDE SER MORTAL SI SE INGIERE O SE INHALA)	PLAGAS	METOMILO, S-METIL N (METILCARBAMOIL(OXI)TIOACETIMIDATO
HIDROXIL PLUS (POLVO)	FUNGICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	PARA TODO TIPO DE CULTIVO	COBRE: HIDROXIDO CUPRICO CON UN CONTENIDO DE Cu MIN. 65%.
MAZATE 200 MANCOZEB (POLVO)	FUNGICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	PARA TODO TIPO DE CULTIVO	MANCOZEB: ION ZINC Y ETILEN MANGANESO, ETILEN BIS DITIOCARBONATO.
FURADAN 5G (GRANULADO)	INSECTICIDA Y NEMATOCIDA SISTEMICO	EXTREMADAMEN TE TOXICO	CONTROL TOTAL	CARBOFARAN (2,3 DIHIDRO-2,2 DIMETIL-7 BENZOFURANIL METIL-CARBAMATO.

Cuadro 2. Continuación

TIODAN (LIQUIDO)	INSECTICIDA	ALTAMENTE TOXICO	PARA TODO TIPO DE CULTIVO	ENDOSULFAN (HEXACLOROHEXAHIDRO- METANO-2,4,3-BENZODIOXATICPIN 3-OXIDO.
GROFOL L (LIQUIDO)	FERTILIZANTE FOLIAR	LIGERAMENTE TOXICO	ALFALFA, ALGODON, CEREALES, FRESA, FRUTALES, MAIZ, SORGO Y HORTALIZAS.	NITROGENO AMONIACAL 10% FOSFORO (P2O5)15% POTASIO (K2O) 5% FIERRO 0.5% ZINC 0.05% CALCIO 0.2% AZUFRE 1% MAGNESIO 0.1% MANGANESO 0.1% COBRE 0.05% BORO 0.04% COBALTO 0.002% ACIDO HUMICO 1.5%
GRO-GREE CAMPBELL (POLVO)	FERTILIZANTE		HORTALIZAS, FRUTALES, CITRICOS.	ACIDO FOSFORICO, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zc, Mo, Co, S, NEPTALENO, SULFATO SODICO.
BIOZYME TF	TRATAMIENTO FOLIAR	LIGERAMENTE TOXICO	PAPA, CAMOTE, BETABEL, TOMATE, CHILES, ETC.	Mn, Zn, Fe, Mg, B, S.
TERRA 5%	FUNGICIDA BACTERICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	PERAL, MANZANA, TABACO, CHILE, JITOMATE.	CLORHIDRATO DE OXITETRACICLINA
FOLEY 50-E	INSECTICIDA	LIGERAMENTE TOXICO	ALGODON, FRIJOL, BERENJENA, DURAZNO, COL, LECHUGA, ETC.	PARATION METILICO.

ESTADIOS DE DESARROLLO

Se observaron variaciones significativas en la acumulación de zinc en los diferentes estadios de desarrollo, ($F(3, 15) = 23.51, P < 0.05$) es notable que durante el crecimiento de la especie existen variaciones en la acumulación de Zn (Fig. 9). En el estadio 1 encontramos un valor alto el cual aumenta en el estadio 2, siendo esta la etapa donde se observa la mayor concentración del metal, al pasar al estadio 3 la concentración desciende a un nivel por debajo del estadio 1 y en juveniles se observa la menor concentración. Es evidente que aunque se presenta este patrón general en cada uno de los metales analizados, la magnitud de las concentraciones difiere entre los metales (Fig. 9 y 10).

Se observa variaciones altamente significativas en las concentraciones de plomo, ($F(3,15) = 244.27, P < 0.05$), el comportamiento de las concentraciones se apega al patrón general antes mencionado sin embargo, en este caso en juveniles no se encontró Pb (Fig. 9).

Como se puede observar en la figura 9, existen diferencias significativas en la acumulación de cadmio, ($F(3,15) = 56.62, P < 0.05$), en los diferentes estadios analizados (Fig. 9). Este metal no se observó en juveniles.

Se observan variaciones altamente significativas en las concentraciones de manganeso en los diferentes estadios, ($F(3,15) = 270.58, P < 0.05$), (Fig. 9).

Como se puede observar en la figura 9, existen variaciones significativas en las concentraciones de cobre en los diferentes estadios y juveniles ($F(3,15) = 2.43, P < 0.05$). En este metal no se observa el patrón general, ya que en el estadio 1 se encontró un valor alto, al pasar a estadio 2 disminuye descendiendo hasta estadio 3 donde se observa la menor concentración al pasar a juveniles aumenta considerablemente superando el valor del primer estadio.

Existieron variaciones altamente significativas en las concentraciones de hierro ($F(3,15) = 228.821, P < 0.05$) y aluminio ($F(3,15) = 167.57, P < 0.05$) en los diferentes estadios (Fig. 10). El comportamiento en la acumulación de Fe y Al es semejante a los demás, con la diferencia de que estos metales fueron los que se registraron en mayor cantidad en los diferentes estadios y juveniles en comparación con los demás metales analizados (Fig. 9 y 10).

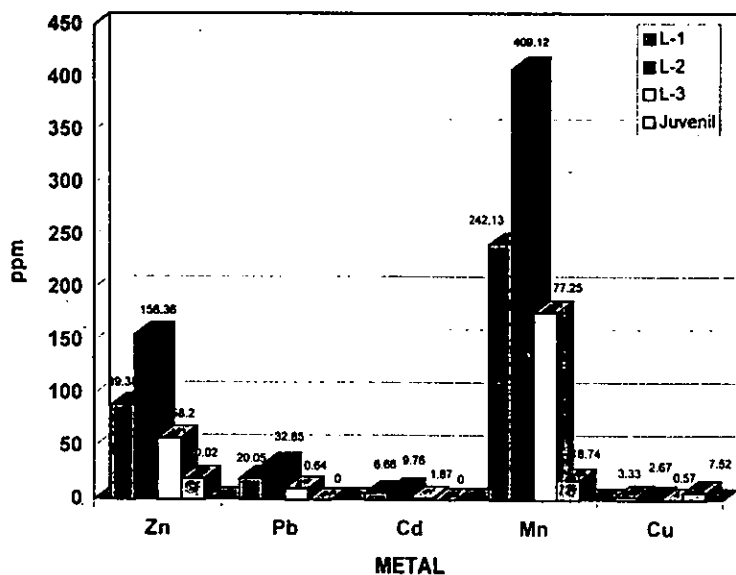


Figura 9.- Concentraciones promedio de los metales zinc, plomo, cadmio, manganeso y cobre en los diferentes estadios de desarrollo y juveniles.

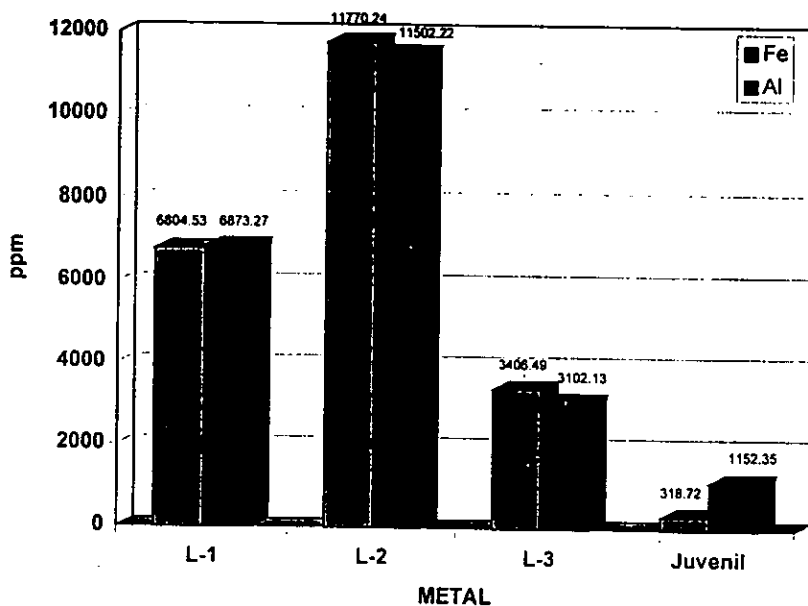


Figura 10.- Concentraciones promedio de los metales hierro y aluminio en los diferentes estadios de desarrollo y juveniles.

ÍNDICE DE BIOACUMULACIÓN EN ESTADIOS DE DESARROLLO

Al comparar los valores de las concentraciones de los metales analizados en los diferentes estadios de desarrollo con respecto a las concentraciones de los metales determinados en agua y sedimento a través de un índice de bioacumulación (IB). Se encontró que el Zn, Pb, Cd, Mn, Fe y Al, en los diferentes estadios sobrepasan ampliamente las concentraciones presentes en agua (cuadro 3). Es apreciable que el estadio 1 presentó menor IB, aumentando en el estadio 2, en el estadio 3 se presenta el mayor IB, con una tendencia a disminuir en juveniles. Es notable que el estadio 3 es donde se encuentra el mayor valor.

El Cu no se ajusta a el patrón antes mencionado ya que como se observa en el cuadro 3, de un valor alto en estadio 1, disminuye en el estadio 2, aumentando en estadio 3 y desciende al mínimo en juveniles.

Cuadro 3. Índices de Bioacumulación entre los estadios de desarrollo y juveniles con las concentraciones encontradas en el agua.

	ESTADIO I	ESTADIO II	ESTADIO III	JUVENILES
METAL				
Zn	64.00	186.06	499.872	285.74
Pb	0.00	181.66	560.86	342.32
Cd	0.0	72.373	379.76	259.143
Mn	77.63	734.21	1694.78	1003.02
Fe	131.485	0.412	4855.71	2807.15
Al	604.274	1626.70	6031.58	3604.23
Cu	752.7	57.6	267.57	33.16

Al comparar el IB de los estadios de desarrollo, con respecto a el sedimento (cuadro 4), se observa que el Cd y Mn en los estadios III sobrepasan escasamente las concentraciones detectadas en sedimento y presentan valores cercanos en relación al sustrato, el Pb y Fe en estadio 3 y en juveniles el Cd. Mientras que los demás metales presentes en los diferentes estadios muestran valores inferiores en relación al sustrato.

Cuadro 4.- Indices de Bioacumulación entre los estadios de desarrollo y juveniles con las concentraciones encontradas en sedimentos.

	ESTADIO I	ESTADIO II	ESTADIO III	JUVENILES
METAL				
Zn	0.0	0.0	0.0	0.0
Pb	0.0	0.028	0.91	0.55
Cd	0.0	0.28	1.456	0.99
Mn	0.051	0.485	1.121	0.0027
Fe	0.019	0.21	0.716	0.414
Al	0.4341	0.117	0.433	0.26
Cu	0.0	0.0	0.0	0.0

METALES EN TEJIDOS DE ORGANISMOS ADULTOS

Se observaron diferencias significativas en la acumulación de zinc en los diferentes tejidos analizados ($F(5,99) = 5.94$, $P < 0.05$), (Fig. 11). Encontrando valores mínimos en los cuerpos grasos, corazón y músculo incrementándose significativamente la concentración en hígado y alcanzando los valores superiores en riñón y huevos oviductales.

Se observaron diferencias poco significativas en las concentraciones de plomo en los tejidos analizados, ($F(5,99) = 1.71$, $P < 0.05$). No se detectó la presencia de Pb en corazón y cuerpos grasos, se encontraron bajas concentraciones con valores similares en riñón, músculo, hígado y huevos oviductales (Fig. 12).

Riñón y lípidos fueron los únicos tejidos en los que no se detectó la presencia de cadmio. El Análisis estadístico muestra que no hay diferencias significativas en las concentraciones de Cd en los demás tejidos incluyendo a huevos oviductales ($F(5,99) = 0.92$, $P > 0.05$), (Fig. 13).

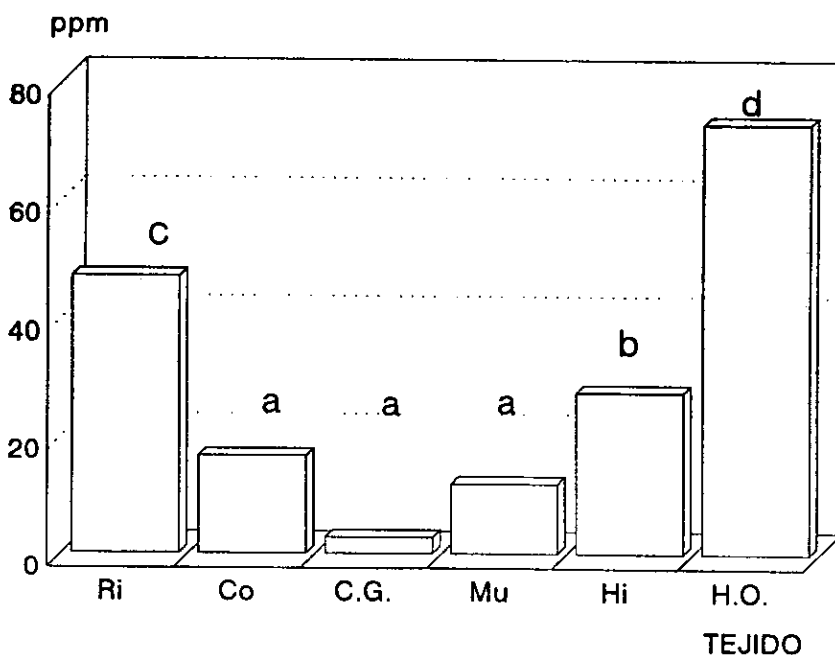


Figura 11.- Concentraciones promedio de zinc en los diferentes tejidos analizados. (Ri) riñón, (Co) corazón, (C.G.) cuerpos grasos, (Mu) músculo, (Hi) hígado y (H.O.) huevos oviductales. Las notaciones son las mismas para el resto de las figuras a menos que se indique lo contrario. Para las desviaciones estandar ver Anexo I.

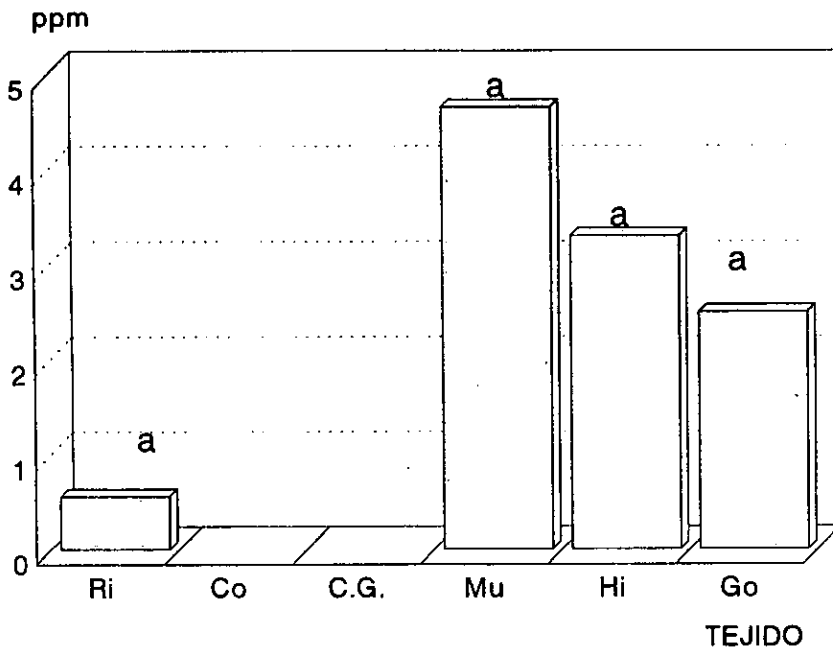


Figura 12.- Concentraciones promedio de plomo en los diferentes tejidos analizados.

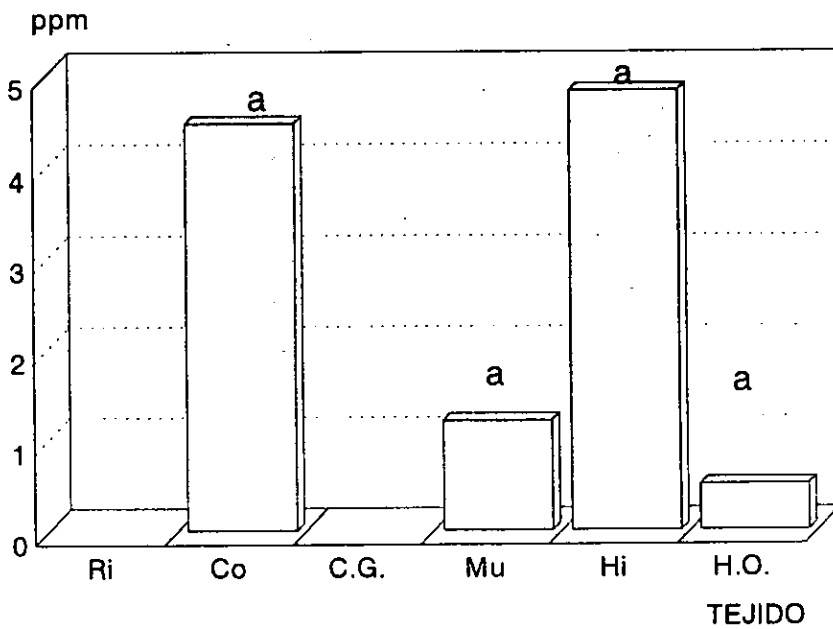


Figura 13.- Concentraciones promedio de cadmio en los diferentes tejidos analizados.

Se observaron variaciones poco significativas en las concentraciones de manganeso en los tejidos ($F(5,99) = 1.58, P < 0.05$), no se encontró dicho metal en corazón y cuerpos grasos (Fig. 14), se detecto un valor mínimo en músculo y riñón; un ligero incremento pero significativo, en las concentraciones de Mn en hígado y huevos oviductales.

Se observaron variaciones significativas en los valores de cobre en los diferentes tejidos estudiados, ($F(5,99) = 3.91, P < 0.05$), en los cuerpos grasos no se detecto Cu (Fig. 15); en corazón y músculo se presentaron los valores más bajos, mientras que en huevos oviductales y riñón se presento una concentración ligeramente mayor; pero la concentración significativamente más alta se determino en hígado.

Se registraron variaciones significativas en las concentraciones de Hierro en los diferentes tejidos analizados, ($F(5,99) = 5.76, P < 0.05$). Como se puede observar en la figura 16, un primer grupo presentó las menores concentraciones el cual estuvo conformado por los cuerpos grasos y músculo, un segundo grupo con valores mayores pero sin diferencias significativas entre ellos corresponde a los tejidos: riñón, hígado, corazón y en huevos oviductales.

El Aluminio mostró variaciones significativas en su concentración, en los diferentes tejidos ($F(5,99) = 4.79, P < 0.05$), en corazón no se detectó este metal (Fig. 17), se encontró los valores más bajos en músculo, cuerpos grasos y el riñón, mientras que en huevos oviductales se detectó un valor mayor en la concentración, sin embargo, el hígado fue el que presento la concentración más alta.

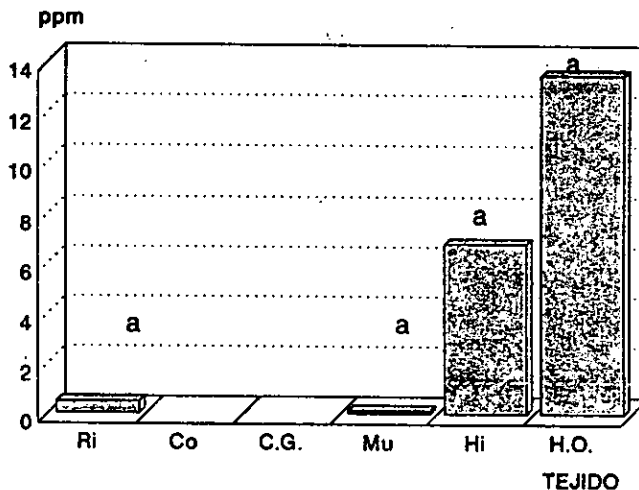


Figura 14.- Concentraciones promedio de manganeso en los diferentes tejidos analizados.

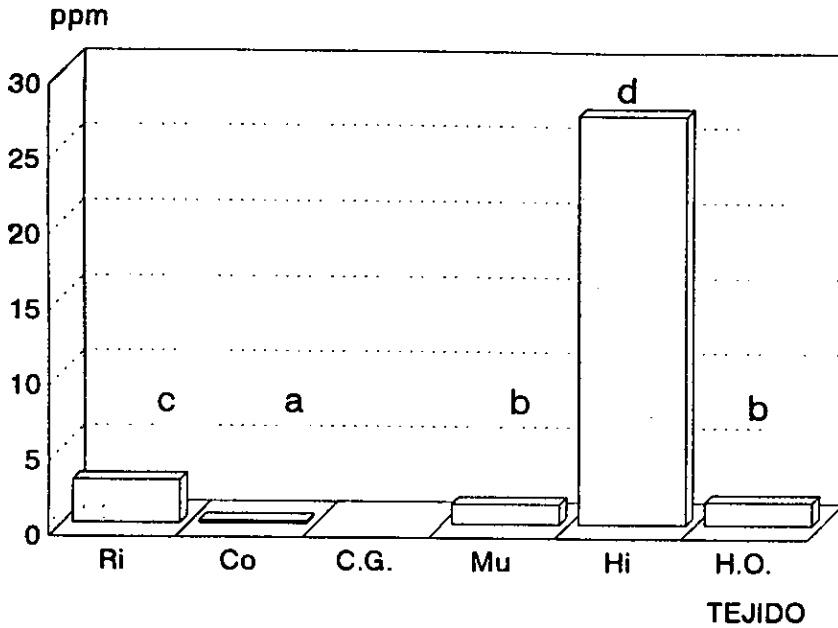


Figura 15.- Concentraciones promedio de cobre en los diferentes tejidos analizados.

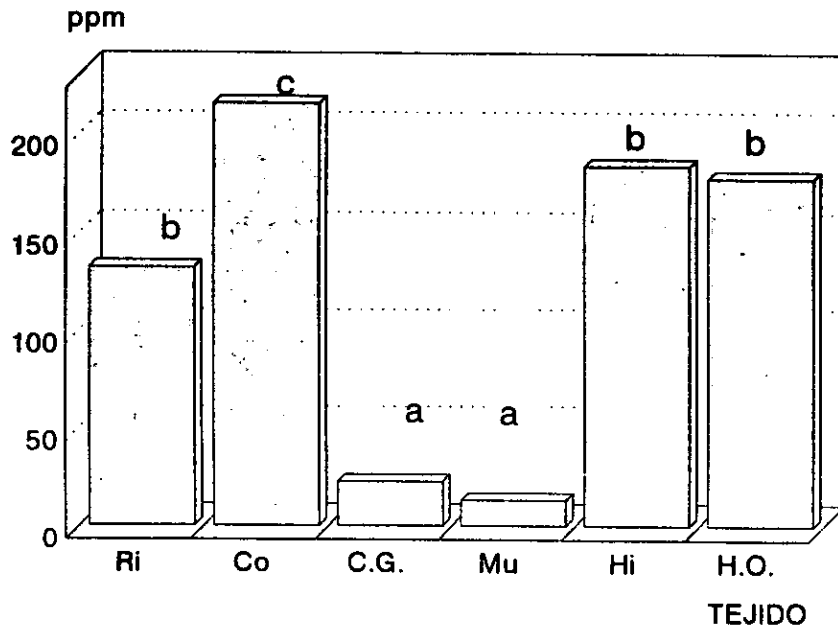


Figura 16.- Concentraciones promedio de Hierro en los diferentes tejidos analizados.

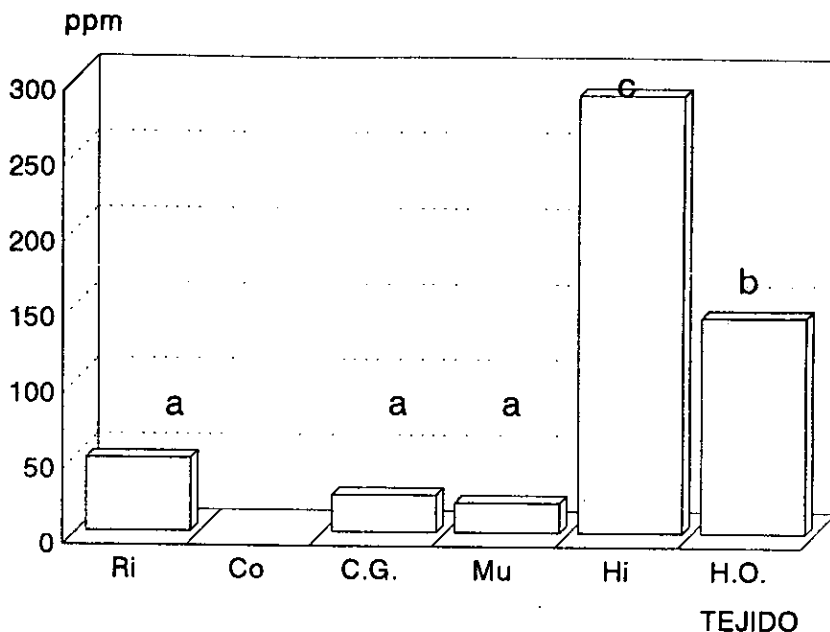


Figura 17.- Concentraciones promedio de aluminio.

ÍNDICES DE BIOACUMULACIÓN EN TEJIDOS DE ADULTOS

El índice de bioacumulación entre tejidos y en huevos oviductales en relación con el agua (Cuadro 5), mostró que en la mayoría de los tejidos así como en huevos oviductales la concentración sobrepasa grandemente a las concentraciones registradas en agua. En riñón el Cd, en corazón Pb y Al, en cuerpos grasos Pb, Cd, Mn, y Cu, no mostraron que sobrepasaran a los valores de metales encontrados en agua.

Al comparar los tejidos y huevos oviductales de *B. valliceps* con el sedimento (cuadro 6), el IB. mostró que la mayoría de las concentraciones de los diferentes metales en tejidos y huevos oviductales fueron inferiores en comparación al sustrato, salvo en corazón e hígado la concentración de Cd presentó un valor cercano a el encontrado en suelo.

Cuadro 5.- Indices de Bioacumulación entre los diferentes tejidos analizados y huevos oviductales con las concentraciones encontradas en el agua.

	RIÑON	CORAZON	CPOS. GRASOS	MUSCULO	HIGADO	HUEVOS OVIDUCTALES
METAL						
Zn	150.66	53.324	8.81	38.12	88.283	233.51
Pb	9.54	0.0	0.0	79.454	53.69	42.7
Cd	0.0	173.7	0.0	41.082	187.19	19.44
Mn	1.96	0.0	0.0	0.49	27.33	4.14
Fe	54.59	88.80	4.052	5.33	75.88	73.37
Al	25.39	0.0	12.92	10.41	151.86	74.92
Cu	282.73	15.1	0.0	131.21	2722	150

Cuadro 6.- Indices de Bioacumulación entre los diferentes tejidos analizados y huevos oviductales con las concentraciones encontradas en sedimentos.

	RIÑON	CORAZON	CPOS. GRASOS	MUSCULO	HIGADO	HUEVOS OVIDUCTALES
METAL						
Zn	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Pb	0.0154	0.0	0.0	0.13	0.087	0.07
Cd	0.0	0.67	0.0	0.16	0.72	0.0745
Mn	0.0012	0.0	0.0	0.0003	0.02	0.037
Fe	0.008	0.013	0.0005	0.0008	0.011	0.011
Al	0.002	0.0	0.001	0.0007	0.011	0.0053
Cu	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

El IB de los valores de las concentraciones de los metales analizados en los diferentes tejidos y huevos oviductales con respecto a los valores determinados para contenido estomacal (Cuadro 7), mostró que las concentraciones de los metales en tejidos y huevos oviductales están por debajo de los valores detectados en el contenido estomacal; a excepción del Cd en corazón, Cd y Cu en hígado que sobrepasan a las concentraciones observadas en el contenido estomacal. Por otro lado el Zn en riñón, Pb y Cd en músculo y en huevos oviductales el Zn y Mn presentaron valores cercanos a los detectados en contenido estomacal.

Cuadro 7.- Índices de Bioacumulación entre los diferentes tejidos analizados y huevos oviductales con las concentraciones encontradas en los contenidos estomacales.

	RIÑON	CORAZON	CPOS. GRASOS	MUSCULO	HIGADO	HUEVOS OVIDUCTALES
METAL						
Zn	0.6336	0.2242	0.0134	0.16	0.3713	0.9821
Pb	0.083	0.0	0.0	0.7	0.47	0.37
Cd	0.0	2.64	0.0	0.63	2.843	0.295
Mn	0.028	0.0	0.0	0.007	0.392	0.80
Fe	0.063	0.1031	0.047	0.006	0.09	0.085
Al	0.029	0.0	0.0006	0.012	0.1744	0.086
Cu	0.193	0.01	0.0	0.09	1.856	0.1022

Con el fin de conocer la cantidad de metales que pudiese estar aportando *B. valliceps* a cualquier organismo que lo depreda, en algunos de su estadio de desarrollo, se procedió a determinar cuanto aportaría un solo organismo de tamaño promedio de acuerdo a los analizados en el presente estudio (ver pagina 22). Para el caso de adultos se considero la sumatoria de cada metal en la totalidad de los órganos analizados para un adulto de tamaño promedio de 65.8 mm de longitud hocico cloaca con un peso de 27.3 grs.

Para hacer comparativa la cantidad del metal en cada uno de los estados de desarrollo del anfibio a continuación se presentan las siguientes gráficas.

En la gráfica 18 se observa la presencia de Zn en todas las etapas analizadas, en donde se nota una variación de concentraciones, el mínimo valor corresponde a Larvas-1, se incrementa en Larvas-2 y Larvas-3 sucesivamente; al pasar a juveniles la concentración disminuye a un valor por arriba de Larvas-2; al pasar a la etapa adulta el valor aumenta considerablemente superando a todas las etapas analizadas, a huevos oviductales presentan mayor concentración en relación a las etapas larvarias y juveniles, debido probablemente a que en los huevos oviductales se requiere la presencia de Zinc para los procesos enzimáticos que son muy importantes para el desarrollo embrionario.

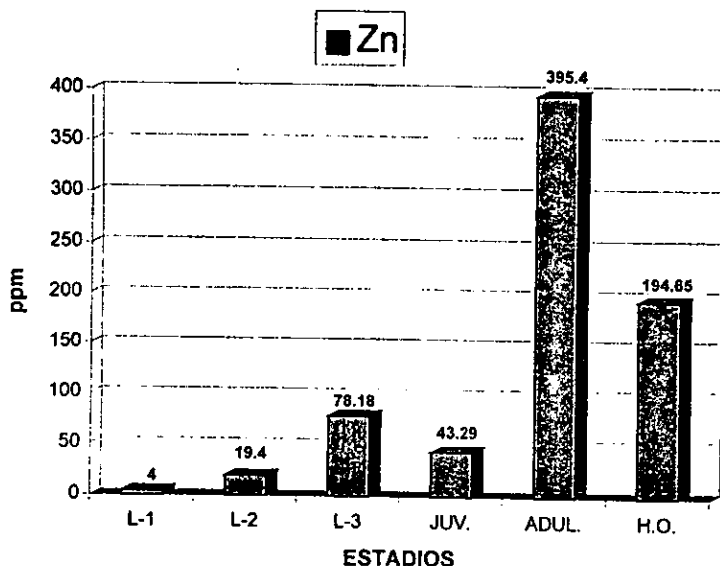


Figura 18.- Comparación de la cantidad de Zinc que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo. (L-1) Larvas-1, (L-2) Larvas-2, (L-3) Larvas-3, (JUV.) Juvenil, (ADUL.) Adulto, (H.O.) Huevos Oviductales. Las indicaciones son las mismas para el resto de las figuras a menos que se indique lo contrario.

No se encontró Pb en Larvas-1 y juveniles, en Larvas-2 se detecta la presencia de este metal al pasar a Larvas-3 aumenta aproximadamente 4 veces el valor de Larvas-2, pero desaparece en juveniles, sin embargo, en adultos se detecta la mayor concentración de este. Es notable que en huevos oviductales se encuentre y con valores menores a Larvas-2 (Fig. 19).

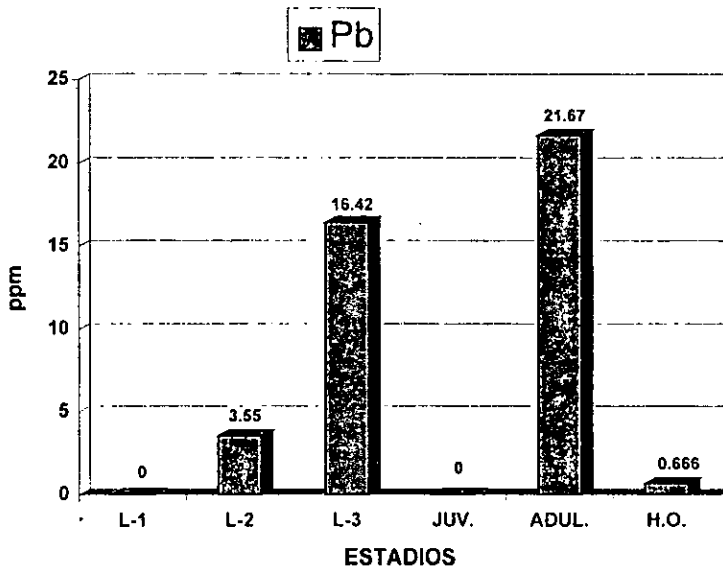


Figura 19.- Comparación de la cantidad de Plomo que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo.

El comportamiento de las concentraciones detectadas en Cd, se asemeja al patrón establecido para Pb. Son significativos los valores tan altos de Cd en adultos (Fig. 20). Es apreciable la presencia del metal en huevos oviductales con valores superiores a Larvas-2.

La concentración de Mn aumenta progresivamente de Larvas-1 a Larvas-3, en juveniles, desciende a un nivel por debajo de Larvas-2, en adultos el valor aumenta pero con un valor por debajo de Larvas-3. En huevos oviductales se presentan valores superiores a Larvas-1 que es la etapa en donde se presenta la mínima concentración (Fig. 21).

Las concentraciones presentes de Cu siguen el patrón antes mencionado para Pb y Cd con la diferencia de que en Larvas-2 se detecta la mínima concentración (Fig. 22).

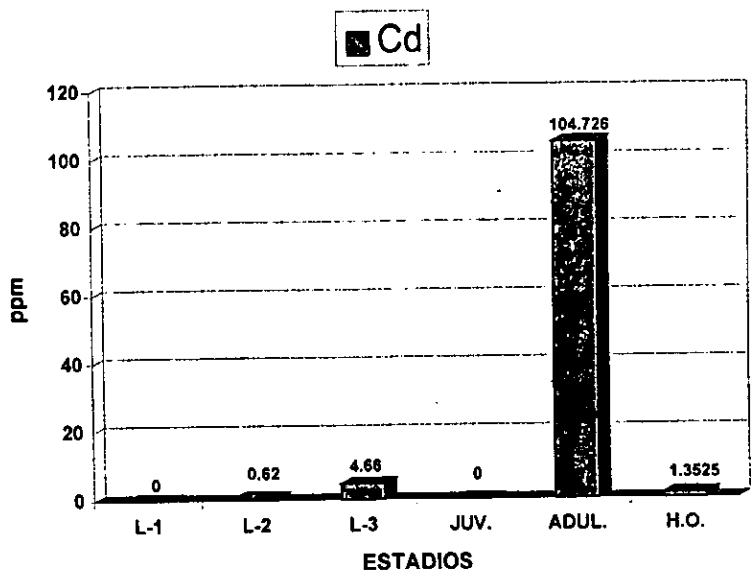


Figura 20.- Comparación de la cantidad de Cadmio que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo.

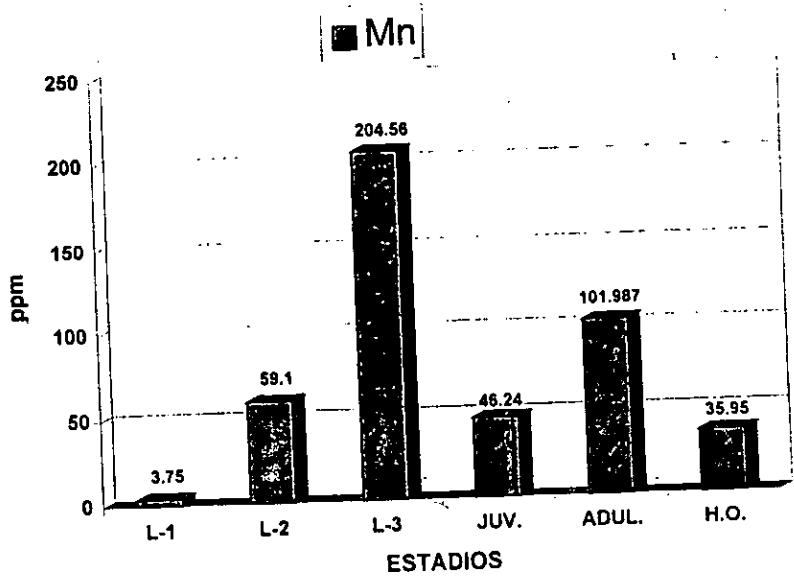


Figura 21.- Comparación de la cantidad de Manganeso que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo.

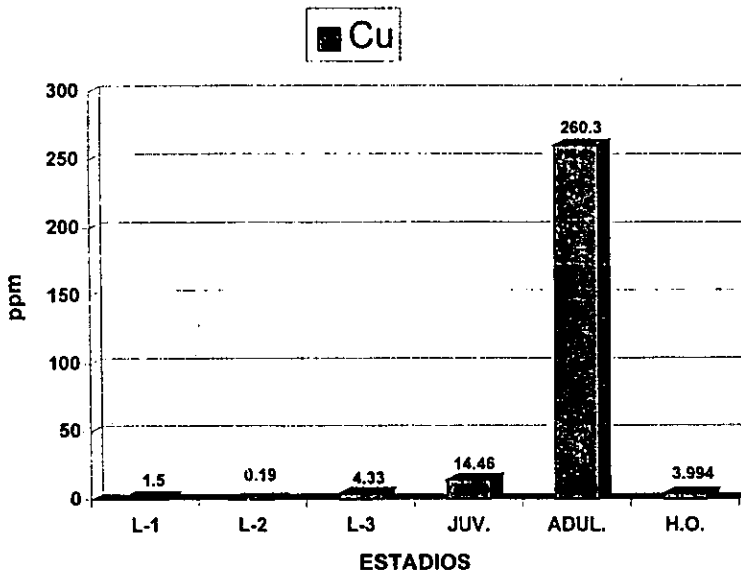


Figura 22.- Comparación de la cantidad de Cobre que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo.

Es semejante el comportamiento de Fe y Al. El valor mínimo corresponde a Larvas-1 el cual incrementa en Larvas-2 y Larvas-3 aumenta considerablemente y en adultos tiende a incrementar superando a Larvas-1, Larvas-2 y Juveniles. En huevos oviductales se presentan valores en ambos metales por arriba de Larvas-1 (Fig. 23 y 24).

Es de esperarse que conforme se avanza el desarrollo de las larvas, incremente la biomasa por ello la cantidad del metal acumulado. Los cambios en cantidad de metales en la transición de larva a juvenil o de juvenil a adulto, se deba quizás al metabolismo que regula la cantidad de los metales en el organismo.

Es apreciable la elevada cantidad de Pb, Cd y Cu (metales no esenciales), en los adultos considerando que solo se determino para cinco tejidos y que aún faltarian cuantificar la deposición en cerebro, tejido óseo, estomago, intestinos y piel.

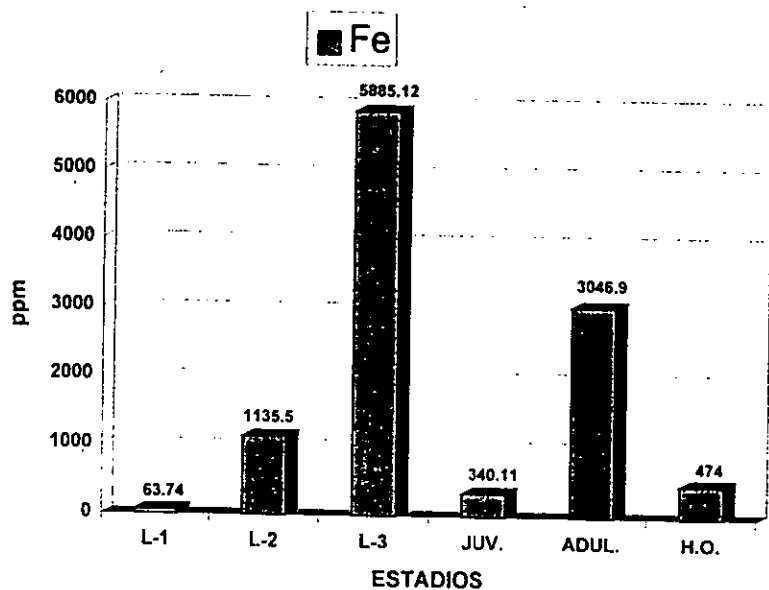


Figura 23.- Comparación de la cantidad de Hierro que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo.

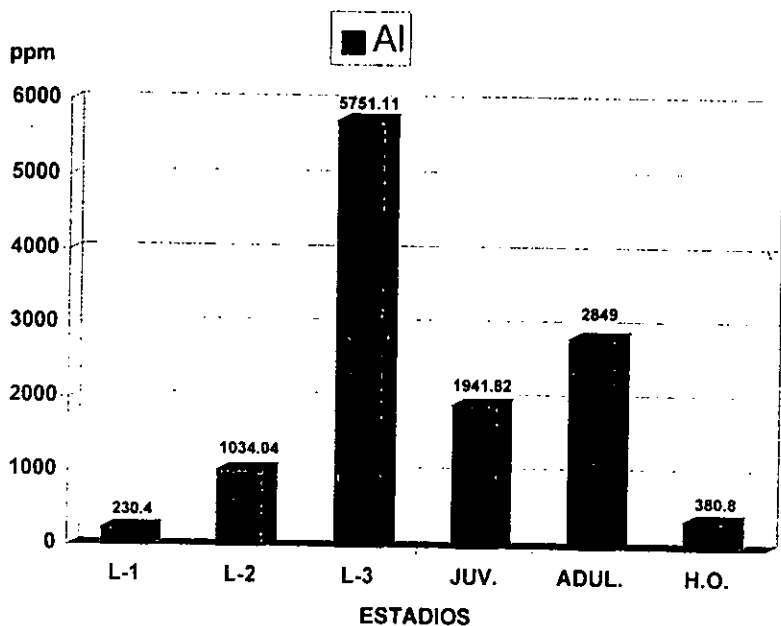


Figura 24.- Comparación de la cantidad de Aluminio que contiene un solo organismo de cada estadio de desarrollo.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

AGUA

En el agua de la Zona Agrícola de Meztitlán Hgo. se detectó en menor concentración Cu, Cd, Pb, Mn y Zn, en mayor concentración Al y Fe. Los valores de los diferentes metales pesados determinados en el agua no sobrepasan a los valores máximos permisibles reportados en la NOM-CCA-ECOL- 032/1993 (D.O.F.1993) a excepción de Cd que duplica el valor máximo permisible y Mn que lo sobrepasa ligeramente, cuadro 8.

El Mn en aguas de Meztitlán presentó el valor de 0.24 ppm que sobrepasa los 0.14 ppm valor aceptado como tolerable, para agua potable que es de 0.10 ppm por la Organización Mundial de la Salud, (Galvao y Corey, 1987b). Sin embargo el Mn se encuentra en el máximo permisible de contaminación para aguas residuales de origen urbano o municipal para su disposición mediante riego agrícola de acuerdo a la NOM-ECOL-CCA-032/1993, (D.O.F.1993).

Cuadro 8.- Valores de las concentraciones de metales pesados detectados en Meztitlán Hidalgo y los valores máximos permisibles en la NOM-CCA-ECOL-032/1993, (D.O.F. 1993).

METAL	VALORES EN AGUA DE MEZTITLÁN (ppm)	NOM-CCA-32-ECOL/1993 (ppm)
COBRE	0.01	5
CADMIO	0.02*	0.01
PLOMO	0.05	5
MANGANESO	0.24*	0.2
ZINC	0.31	2
ALUMINIO	1.90	5
FIERRO	2.42	5

* Valor que sobrepasa los permisibles

SEDIMENTOS

Los sedimentos analizados, no presentaron Zn y Cu. Estudios que se han realizado en suelos de Palmerton de EUA registraron como contaminación una concentración de 230 a 24000 ppm de Zn y de 9.9 a 440 ppm de Cu (Beyer *et al.*, 1985).

Los valores considerados como normales de Pb en suelo son de 25 ppm (Corey y Galvao, op. cit.), si la comparamos con el valor obtenido en los sedimentos de Meztitlán tenemos que para éste fue de 36.16 ppm el cual sobrepasa una concentración de 45.60 % con respecto a los niveles normales. Lo que indica que estos sedimentos están contaminados por Pb. Las altas concentraciones de Pb en suelo son un potencial peligroso para la vida silvestre y para aquellas especies cuya cadena alimenticia dependa del suelo (Ireland, 1977).

Estudios realizados en suelos cercanos a una fundidora en Palmerton Pennsylvania, EUA indican una fuerte contaminación por Pb con valores de 41 a 2700 ppm. Esto indica que el valor detectado en Meztitlán Hidalgo no es altamente tóxico, en comparación con otros valores que sobrepasan de una manera alarmante los valores normales.

La concentración de Cd sobrepasa 6 veces a el valor considerado normal (1ppm) de acuerdo a la OMS (Galvao y Corey, 1987a). El valor obtenido de 6.70 ppm en Meztitlán indica que los sedimentos analizados presentan altas concentraciones de Cd; se debe tomar en cuenta que a este metal se le conoce como uno de los más tóxicos, al cual se le atribuyen propiedades cancerígenas (López-Artiguez, *et al.*, 1993).

Tomando en cuenta que el valor detectado para cadmio en los sedimentos que fue de 364.84 ppm y al compararlo con los niveles normales 500-900 ppm reconocidos por la OMS (Galvao y Corey, 1987b) y por otros estudios que reportan suelos contaminados con un valor de 710 ppm (Beyer *et al.*, 1985), nos damos cuenta que el valor detectado en Meztitlán no sobrepasa los límites considerados como tóxicos.

El valor detectado para Fe fue de 16441.24 ppm el cual se considera alto, no se tiene referencias para saber si alcanzan valores altamente tóxicos.

Los valores medios de Al fueron 26540.464 ppm. No hay forma de comparar estos resultados por la inexistencia de otros estudios.

CONTENIDO ESTOMACAL

Zinc

La cantidad de zinc encontrada en los Contenidos Estomacales resultan ser ligeramente altos (76 ppm) al compararlo con valores reportados de 1910-11900 $\mu\text{mol/mg}$ (125.15 - 773.3 ppm) en artrópodos de sitios contaminados por metales pesados (Janseen y Hogervorst, 1993). El elevado contenido de Zn en los contenidos estomacales de *B. valliceps* se deben a que los Arácnidos e Isópodos acumulan grandes cantidades del metal en comparación con los insectos (Roth-Holzapfel, 1989) aunque de alcanzar valores muy altos el Zn en los isópodos les

puede causar la muerte (Beyer *et al.*, 1984). Si observamos el valor de importancia alimentaria, (cuadro 1) los Arácnidos y los Isópodos (cochinillas) fueron relevantes en la dieta de *B. valliceps* de ahí su alto valor del Zn en el contenido estomacal.

Plomo

Los valores de plomo en el contenido estomacal de *B. valliceps* se compara (6.33 ppm) con lo encontrado en diferentes artrópodos con 7.6 - 543 $\mu\text{mol/mg}$ (1.57 - 112.4 ppm) de un sitio contaminado (Janssen y Hogervorst, 1993); en insectos carroñeros se ha encontrado valores de 14 ppm lo cual se considera un valor alto (Beyer *et al.*, 1985). El Pb no es un elemento esencial en los organismos por lo que su presencia en los artrópodos depende de concentraciones externas (Martín y Courthney, 1982 en Janssen y Hogervorst, op. cit.). Se sabe que el Pb no alcanza elevados valores en Artrópodos por un mecanismos de excreción rápida (Jassen y Hogervorst, op. cit.).

Cadmio

El Cd se encontró en menor concentración en comparación con los otros metales, su concentración se encuentra muy por debajo de las 25 ppm detectado en insectos carroñeros de un sitio contaminado en USA (Beyer *et al.*, 1985). El Cd al igual que el Pb no es un elemento esencial para los artrópodos por lo que su presencia en los mismos, también depende de su concentración en el medio (Martín y Courthrey, 1982 en Janseen y Hogervorst, op. cit.).

Manganeso

El manganeso alcanzó valores altos al rededor de 20 ppm en los artrópodos que constituyeron la dieta de *B. valliceps*. Janseen y Hogervorst, (1993) registraron valores de 360-10300 $\mu\text{mol/mg}$ (19.77 - 565.78 ppm) en diferentes Artrópodos contaminados por el metal.

Cobre

La presencia de los valores de cobre en el contenido estomacal se debe a que isópodos y Arácnidos usan la hemocianina para transportar oxígeno y se le puede encontrar en menor proporción en Carabidos (Ernst *et al.*, 1974; Olechowicz, 1985; Grodzinka *et al.*, 1987; Roth y Holzapfel, 1989), aunque en condiciones de contaminación los escarabajo carroñeros han alcanzado valores de 13 ppm (Beyer *et al.*, 1985). Si recordamos todos estos artrópodos se encontraron en el contenido estomacal de *B. valliceps* de ahí la explicación del valor de 15.35 ppm de Cu.

Fierro

El Fe fue el metal con más alta concentración en los componentes del contenido estomacal. Este metal debido a su abundancia en el medio se refleja en los valores encontrados en los invertebrados (Janseen y Hogervorst, 1993).

Aluminio

En cuanto a el aluminio no se tiene ninguna referencia para comparar el valor detectado en los artrópodos de la dieta de *B. valliceps*. Pero es evidente que los valores son altos si los comparamos con agua, suelo y tejidos.

EFFECTOS DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES EN HUEVOS Y ESTADIOS DE DESARROLLO

Zinc

En un estudio de campo se encontró que la presencia de 4.73 ppm de zinc en cuerpos de agua en Inglaterra provocó un 75 % de anomalías en huevos de *Rana temporaria*. La causa de las anomalías se debe a una absorción incompleta del vitelo (Beattie *et al.*, 1991). Aunque el agua de la laguna Mezquitlán no alcanza grandes valores (0.36 ppm), son notables los valores de 73.04 ppm, encontrados en los propios huevos oviductales.

El tratamiento de larvas de *Bufo arenarum* con 32 ppm de Zn provocó la muerte del 65 % de los organismos después de 120 hrs. del tratamiento. A concentraciones menores no tuvo efecto letal (Hercovits y Pérez-Coll 1991). Las larvas de *Bufo valliceps* tampoco se encuentran expuestas a estos valores en agua. El Zn puede tener un efecto benéfico al reducir efectos del Pb en proporción 1:1 (Hercovits y Pérez-Coll, 1991).

Plomo

Si bien es baja la concentración de Pb en el agua de Mezquitlán, es significativa la cantidad de Pb en los huevecillos (2.49 ppm) considerando que no es un elemento esencial (Fig. 12).

En una Rana Coreana se encontró que con valores de 4-70 ppm de plomo en agua, provoca reducción en el número de células germinales, mientras que en los renacuajos provocó citolisis (Hah, 1979).

Al exponer a huevos de *Xenopus laevis* a valores de 0.001, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, y 10 ppm de Pb, ocasiono deformaciones severas en los embriones, del orden del 59, 74, 82, 96 y 100 % y muerte respectivamente; además de las deformaciones se dio la

detención del desarrollo, edemas, escaso pigmento, parálisis y no se presenta enrollamiento del intestino en larvas (Miller y Landesman, 1978).

En las larvas de *B. valliceps* es apreciable que los valores de bioacumulación incrementa con el desarrollo larval y que las concentraciones del metal son altísimas (Fig. 8), incluso cuando han sufrido su total transformación (20.05 ppm) Esto sobrepasa en mucho a lo valores alrededor de 0.97 ppm de Pb a lo largo de todas las etapas del desarrollo larval de *Rana esculeta* (Baudo, *et al.*, 1976).

En larvas de *Rana clamitans* carentes de miembros expuestas a 750 - 1000 ppb de Pb se observaron efectos adversos en la locomoción, aprendizaje y memoria debido a la neurotoxicidad del metal (Taylor *et al.*, 1990).

En experimentos con larvas de *Bufo arenarum* se encontró que al exponerlas a 16 ppm de Pb provocó la muerte del 60 % de los organismos a las 120 horas, de la exposición; el 55 % de organismos tratados con 1 ppm murieron a las 70 hrs. (Herkovits y Pérez-Coll, 1991). Antes de la muerte los efectos provocados por el Pb tuvieron nado errático y reducción en el equilibrio lo cual puede ser debido a la interferencia del Pb con los cationes bivalente tales como el calcio (Craan *et al.*, 1986 en Hercovits y Pérez-Coll, *op. cit.*).

El Pb en una base molar es 6 veces más tóxico que el Zn desde el punto de vista bioquímico puede ocasionar un descenso de la actividad celular al interferir con proteínas y ácidos nucleicos (Marion y Denizeau, 1983 en Hercovits y Pérez-Coll, 1991). El Pb se une a los grupos sulfidrilos de polipéptidos y fosfatos de ácidos nucleicos, esto provoca la distorsión de proteínas y la ruptura de ácidos nucleicos, resultando una inhibición de algunos sistemas (Eisinger, 1978 en Hercovits y Pérez-Coll, 1991).

Los elementos esenciales son regulados dentro de ciertos intervalos en cada especie sin embargo, los elementos no esenciales como el Pb son más dependientes de las concentraciones externas (Martín y Courthrey, 1982 en Janssen y Hogevoorst, 1993).

Es fácil percatarse que con valores bajos de Pb se provoca daños muy severos al estado larval de los organismos. Por lo que al considerar los valores de Pb en agua, sedimento y los estadios larvales 2, 3 y los organismos metamorfoseados en Meztitlán, es muy probable que estos estén sufriendo los daños antes mencionados.

Cadmio

Huevos y larvas de *Xenopus laevis* al ser expuestos a concentraciones de 0.001, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0 y 10 ppm de cadmio en agua han presentado deformaciones severas del orden del 91 %, 91 %, 87 %, muerte, 2 % y muerte de los organismos respectivamente, entre los afectos observados están: la detención del desarrollo,

edemas, pigmentación pobre, parálisis y no hay plegamiento del intestino (Miller y Landesman, 1978).

Los estadios larvarios de *Bufo arenarum* expuestos a 1, 2 y 4 ppm de Cd en agua, han sufrido mortalidad en una proporción del 5 %, 25% y 90 % respectivamente a las 72 hrs. de la exposición, antes de la muerte, sufren de edemas, nado en posición anormal, pérdida del equilibrio, incremento de la irritabilidad, contracciones arrítmicas, incurvación del blando axial y caída de la piel; la toxicidad del Cd se interpreta como un efecto secundario del efecto inhibitorio de la ATPasa epitelial (Muiño *et al.*, 1990).

Los huevecillos dentro de las hembras de *B. valliceps* mostraron valores superiores a los anteriormente descritos y en larvas se encontró este metal a partir del estadio 2 con valores de 1.86 ppm hasta el valor de 9.76 ppm en los juveniles. Es evidente que parte de los efectos antes descritos por los autores pueden estar provocando la mortalidad así como las demás afectaciones en los huevecillos y las larvas de *B. valliceps*.

En embriones de *Xenopus laevis* se ha observado afectaciones en epidermis en el 40 % de los organismos, ojos en el 35 %, pronefros (24% de los organismos) y 20% en somitas de los embriones tratados con 2 ppm de Cd; es evidente su efecto en la organogénesis (Cotta, 1980).

Se sabe que el Zn puede ser un agente protector de los efectos tóxicos del Cd. El efecto protector del Zn contra el Cd depende de una proporción óptima del 1:8 Cd/Zn (Hercovits y Pérez-Coll, 1991). En el agua de la laguna de Meztitlán está proporción es de 1:14 Cd/Zn por lo que se puede estar dando este efecto protector por parte del Zn.

El Cd no es un elemento esencial para los organismos al igual que el Pb por los que su concentración en los organismos depende de la concentración externa (Martin y Courthrey, 1982 en Janssen y Hogevoorst, 1993), lo cual es evidente en las larvas de *B. valliceps* ya que el contenido de Cd en el agua duplica el valor considerado como normal y es seis veces mayor en suelo con respecto al normal.

Manganeso

Baudo (1976) encontró que el manganeso es el metal que alcanza mayor concentración dentro de los huevos en comparación con el Cu, Cr y Pb en *Rana esculeta*. En *Bufo valliceps* también el Mn estuvo por arriba del Pb y Cu pero fue superado por las concentraciones de Zn, Fe y Al. El valor de *R. esculeta* es superior al encontrado en el sapo de Meztitlán. Sin embargo las 8.1 ppm de Mn en huevecillos de *R. esculeta* son superados por los 13.49 ppm de *B. valliceps*.

De acuerdo a Baudo (1976) el manganeso alcanza mayor concentración en las primeras etapas de desarrollo larval (654 -776 ppm) y luego tiende a descender hasta 23 ppm, poco antes de la transformación total en larvas de *Rana esculeta*. En *Bufo valliceps* la concentración del Mn se comporta de manera inversa ya que incrementa con el desarrollo de las larvas (18.74 - 409.12 ppm) (Fig. 9) y para cuando han sufrido la total transformación el valor desciende a la mitad (242.12 ppm).

Con concentraciones de 0.001, 0.1, 0.1, 0.5, 1.0 y 10 ppm de Mn en agua se ha provocado deformaciones severas en los organismos del orden del 92%, 87%, 87%, 79%, muerte y 54% respectivamente en *Xenopus laevis* (Miller y Landesman, 1978). Lo anterior puede estarle sucediendo a las larvas de *B. valliceps* dado que la cantidad de Mn en el agua de la laguna (0.24 ppm), rebasa ligeramente la permitida en la norma de aguas residuales de origen urbano y municipal para uso en riego agrícola (D.O.F., 1993) y se encuentra dentro de los valores reportados por Miller y Landesman (1978). A bajas concentraciones del metal tiene como primeros efectos: descenso en la actividad de nado, reducción del pigmento en ojo y en el cuerpo. Con altas concentraciones los primeros efectos son: retraso en el desarrollo, en la pigmentación y en la actividad física; muchos de los embriones afectados mostraron detención del desarrollo, presencia de edemas, muy pobre pigmentación, parálisis y no se da el plegamiento del intestino. Se ha visto que la presencia arriba de 2 ppm de magnesio, atenúa el efecto tóxico del manganeso (Miller y Landesman, 1978).

Cobre

El Cu es el metal disuelto con más baja concentración en el agua (0.01 ppm) y no se encontró en los sedimentos; en huevecillos los valores fueron de 1.5 ppm que muestra ser menor al reportado por huevos de *Rana esculeta* con 9.54 ppm (Baudo, 1976).

Las larvas de *B. valliceps* mostraron mayor concentración de Cu con respecto al agua de acuerdo al IB (Cuadro 3) y no parece haber un patrón de acumulación en las larvas ya que del valor alto en el primer estadio desciende significativamente en el segundo estadio, vuelve a incrementarse y decae al mínimo en juveniles. Baudo (1976), encuentra más o menos el mismo patrón pero con valores superiores en la concentración del metal (32 -7.63 ppm). Por lo anterior se puede decir que la cantidad de Cu en agua, huevos y larvas de *B. valliceps* no pueden ser considerados como valores tóxicos, ya que no rebasan valores reportados como dañinos, como es el caso donde se expuso a larvas de *Rana pipiens* a valores de 0.31 - 1.56 ppm de Cu en el agua, lo cual les ocasiona la muerte, pero no a embriones (Dilling y Healey, 1925 en Freda, 1991). Cuando las concentraciones del metal alcanzan valores de 60 ppm provoca la inhibición del crecimiento en *R. pipiens* y con valores de 150 ppm las larvas recién eclosionadas sobreviven solo 72 hrs (Lande y Guttman, 1973 en

Freda, 1991). *Xenopus laevis* en su estado larval sólo vive 96 hrs. al exponerse a 157 ppm (Freda, 1991).

En larvas de *Bufo boreas* se considera que el límite letal es tan sólo de 20 - 44 ppb (Porter y Hakanson, 1976 en Freda, 1991).

Fierro

No hay forma de comprobar la concentración de fierro encontrada en el agua del área de estudio con otras zonas por la falta de referencias. El Fe fue el metal disuelto en agua que presentó la más alta concentración con respecto a todos los demás metales analizados (2.42 ppm). Pero fue muy superior su contenido en sedimentos pues es del orden de 16441.26 ppm. Esto se debe a que el pH del agua es neutro e impide la disolución del Fe en el líquido.

En huevos oviductales el Fe fue el tercer elemento más alto en los tejidos (Fig. 16). La cantidad de este metal también fue altamente significativa en los diferentes estadios larvales (Fig. 10), los cuales mostraron incrementos en la bioacumulación incluso en organismos juveniles. Son desorbitantes las cantidades y superan a las encontradas en tejidos de adultos, incluso sumándolos, lo anterior parece ser el reflejo de la dieta de las larvas que suelen obtener su alimento de la superficie del sustrato, por lo que seguramente los valores en los organismos son resultado de las cantidades presentes en sedimentos.

Se ha visto que se incrementa la probabilidad de obtener huevos anormales cuando se exponen a 2.24 ppm de Fe (Beattie *et al.*, 1991). Hay que recordar que el agua en la laguna de Mezquitán supera ligeramente el valor antes mencionado.

Se ha reportado como valores mínimos letales 20 a 30 ppm de Fe en agua para larvas de *Bufo boreas* (Porter y Hakanson, 1976).

Se observa mortalidad al inicio de la gastrulación, por efectos del Fe quizás porque es el estado de mayor susceptibilidad a los metales (Beattie, *et al.*, 1991).

Aluminio

El aluminio aunque se encontró en alta proporción con respecto a los otros metales en agua, apenas alcanza las 2 ppm con lo cual no rebasa la NOM-CCA-ECOL-032/1993 (D.O.F., 1993) los valores en sedimento sí resultaron ser muy altos (26540.46 ppm).

La concentración de Al en los huevos oviductales es alta respecto a los tejidos de los adultos (Fig. 17).

En las larvas el contenido de Al mostró ser similar al del Fe; por lo que el alto contenido en las larvas y organismos juveniles se debe seguramente a los altos contenidos en los sedimentos.

Entre los efectos observados con concentraciones de 39 - 80 ppm de Al en agua por 7 días se provoca la eclosión temprana en *Pseudacris regilla* y en *Ambystoma macrodactylum* ocasiona una reducción del tamaño corporal, en *Rana mucosa* y *Bufo canorus* tiene efectos subletales (Bradford *et al.*, 1994).

En *Rana temporaria* valores de 0.56 ppm de Al causan la infertilidad en el 90 % de los huevos encontrados en 21 estanques de Inglaterra con bajo pH (Beattie *et al.*, 1991). El efecto del Al se ha visto más en embriones que en larvas ya que el Al puede inhibir la producción de la enzima de la eclosión la cual digiere la membrana vitelina (Katagin, 1976, Beattie *et al.*, 1991) lo cual afecta las características normales de permeabilidad de la membrana vitelina a iones y el agua (Freda, 1991).

En larvas la alta concentración de Al puede producir irritación epitelial y alteración de la osmoregulación así como pérdida de electrolitos en plasma (por ejemplo Na y Cl) y la muerte cuando se pierde el 50 % (Freda y McDonal, 1990 en Freda, 1991).

EFFECTOS DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES EN ADULTOS

De acuerdo al IB el zinc presentó altos valores en tejidos con respecto al agua ya que en esta su concentración resulto ser más baja; algo similar sucedió con los sedimentos (Cuadro 6).

El IB también mostró que los valores en el contenido estomacal están arriba de los encontrados en los tejidos. El Zn resulto ser el tercer elemento con más alta concentración dentro de los tejidos después del Fe y Al; es de esperarse sus altos valores ya que este metal interviene en las reacciones enzimáticas.

De acuerdo a la Fig. 11, el Zn mostró mayor depositación en el riñón, seguido de el hígado, aparentemente el suministro de este metal es proporcionado por el alimento. No parece haber ningún efecto negativo de este metal en los adultos pues se ha visto que valores de 1 - 3 ppm en el agua donde se encuentran adultos de *Triturus cristatus* provoca una inusual presencia de células en el primordio *hipocampi* (Taban, *et al.*, 1982).

Esta situación no es factible en *Bufo valliceps* pues la concentración en el agua de Meztitlán está por debajo de estos valores. Se ha visto que suele haber mayor concentración de zinc en el mesencéfalo debido seguramente a que está involucrado en mecanismos de regulación neuro-hormonal (Taban, *et al.*, 1982).

De acuerdo al IB el plomo en tejidos resulto ser superior en riñón, músculo e hígado (Cuadro 5) en comparación al encontrado en el agua pero menor en los mismos tejidos con respecto al detectado en sedimento donde fue notable su depositación (36.12 ppm) (Fig. 5). El ingreso de este metal vía alimento mostró también ser significativo (Fig. 7) aunque el IB mostró superiores valores en el contenido estomacal que el encontrado en riñón, músculo e hígado (Cuadro 5).

La concentración diferencial de Pb en los tejidos de *B. valliceps* es evidente, no se detecto en corazón y lípidos. Se ha encontrado en *Xenopus laevis* mayor concentración del Pb en riñón e hígado y baja concentración en piel y músculo (Ireland, 1977); aunque en *B. valliceps* la mayor cantidad estuvo en músculo (4.64 ppm) e hígado (3.14 ppm). Se sabe que 4 ppm provocan citolisis en rana coreana (Han, 1979), y valores de 2.0 ppm en hígado de algunas aves afecta adversamente mecanismos enzimáticos (Dieter, 1979).

Casarett (1980) sostiene que el Pb causa aberraciones cromosómicas y morfología anormal del esperma humano.

Al comparar los valores encontrados en tejidos se puede ver que no rebasaron los valores de Pb encontrados en los estadios larvales 2 y 3 así como en organismos juveniles (Fig. 8). De acuerdo a Baudo (1976) el descenso de la cantidad de Pb en adultos se debe a un cambio en la dieta y a que tal vez los mecanismos de regulación fisiológica impiden su acumulación en corazón como se observó en *Bufo valliceps* y su mayor concentración en hígado, aunque en este estudio la mayor acumulación se dio en músculo.

Los valores en tejidos de *B. valliceps* no rebasan los reportados en otros vertebrados de lugares muy contaminados, como es el caso de 5.5 - 25.0 ppm en hígado y de 14 - 21 ppm en riñón de aves cuculidos; en ratones se ha encontrado de 2.2 - 4.7 ppm en hígado, mientras que en musarañas el hígado presento 27 ppm y en Riñón 280 ppm (Beyer, *et al.*, 1985).

Hercovits *et al.* (1991) menciona reducción en el tamaño de la puesta y reducción del tamaño corporal en mamíferos por acción del Pb.

El cadmio no es un elemento esencial, su presencia en los tejidos es dependiente de el medio externo; de acuerdo al IB la concentración en corazón, músculo e hígado fue superior a la encontrada en el agua pero cercana en corazón e hígado a la concentración detectada en sedimentos (cuadro 6).

Con respecto al Cd que es ingerido, este es apreciable, ya que es el principal elemento que se encuentra en los organismos que ingiere el Bufo (cuadro 7).

La concentración similar de Cd entre el corazón (4.46 ppm) e hígado (4.8 ppm) fueron inferiores a los encontrados en el estadio larval 3 (9.76 ppm) y en organismos juveniles (6.66 ppm). Esto se debe seguramente al cambio de dieta y por regulación fisiológica con el desarrollo de los anfibios.

Los valores detectados en hígado de *B. valliceps* fueron superiores a lo encontrado en el hígado de ratones (1 ppm) de zonas muy contaminadas y cercano al detectado en riñón de los mismos ratones (5 ppm) (Beyer, *et al.*, 1985). Pero los valores de hígado están muy por debajo del detectado en hígado de musarañas que son consumidores de insectos (25 ppm) de la misma zona (Beyer, *et al.*, 1985).

Valores altos de Cd como los detectados con este estudio y el de Beyer, *et al.*, (1985) deben estar causando afectaciones como osteoporosis y nefrocalcinosis por toxicidad del Cd (Gunson, *et al.*, 1982 en Beyer, *et al.*, 1985).

En *Rana temporaria* se ha visto que con suministros de 0.12 - 0.24 mg/100g/día se provoca acumulación y efectos tóxicos en hígado y riñón (Vasil-eva, *et al.*, 1987) y al encontrarse en el agua concentraciones de 10-20 mm. mol/litro de Cd provoca trastornos al sistema nervioso central del sapo *Tectum blistrabas* (Blistrabas, *et al.*, 1989). Sadek (1988) reporta atrofia testicular y necrosis en tubulos seminíferos y la degradación de espermatoцитos en un sapo Egipto por la acción del Cd.

En cuanto al manganeso los tejidos que mostraron mayor cantidad con respecto a las concentraciones del agua fueron el riñón e hígado que lo supero en poco más de 27 veces, como lo muestra el 1B (Cuadro 5), también los huevos oviductales superaron los valores detectados en agua. La bioacumulación en tejidos respecto al sedimento, resulto ser muy baja por el elevado contenido del metal en sedimentos. Lo mismo se presento en la relación de los tejidos con los valores presentes en el contenido estomacal.

Es marcada la acumulación diferencial entre los tejidos (Fig. 14). Baudo (1976) registra al igual que en *B. valliceps* que la mayor concentración del metal se puede encontrar en huevos oviductales, seguido de el hígado, riñón, corazón y músculo; a diferencia de lo reportado por el autor para *Rana esculenta*, en *B. valliceps* se presentó manganeso en huevos oviductales (13.49 ppm). Sin embargo se encontró por debajo de los 22.1 ppm presentes en *R. esculenta*.

Es difícil suponer que los tejidos de el anfibio de Meztitlán presenten problemas de contaminación ya que no hay otro estudio que registren los valores del metal en los tejidos de adultos expuestos a contaminación, sin embargo, es alarmante saber que el agua de la laguna presenta valores de Mn que rebasan el máximo permisible de las aguas residuales de origen urbano que pueden usarse para riego agrícola NOM-ECOL-CCA-032/1993 (D.O.F. 1993).

Con respecto al cobre el IB muestra que el cobre en los diferentes tejidos se encuentra por arriba de los valores presentes en el agua (de 15 a 2722 veces), (Tabla A) ya que la concentración de Cu en agua fue la más baja en relación a los demás metales y no se diga de su inexistencia en los sedimentos.

De acuerdo al IB el hígado es el único tejido que supera la concentración de Cu encontrada en los elementos del contenido estomacal.

Es también diferencial la concentración del Cu en los diferentes tejidos. Baudo (1976) registra uniforme la concentración del metal en los tejidos: hígado, ovario, riñón, corazón, pulmones y músculo donde el valor máximo fue de 10.49 ppm mientras que *B. valliceps* en Meztlán casi triplica este valor en el hígado (27.22 ppm). En el Bufo de Meztlán esta por arriba de lo detectado, en los análisis del organismo completo de: *Plethodon cinereus* (5.5 ppm), *P. glutinosus* (3.86 ppm); *Bufo americanus* (6.92 ppm), *B. woodhousei* (6.7 ppm) y *Rana sylvatica* (5.5 ppm) (Beyer *et al.*, 1985).

Aparentemente el Cu es suministrado vía alimento ya que es el factor con mayores valores del metal (Fig. 7).

Se ha visto que *Rana pipiens* y *Xenopus laevis* tolera por 30 días valores de 1500 - 1600 ppb (Raplan y Yoh, 1961; Fingal y Raplan, 1963 en Freda, 1991). Sin embargo en *R. cyanophytis* valores de 100 y 200 µg de Cu por 40 días provocó un incremento en glóbulos blancos por 7 días con un posterior descenso además de una baja en el contenido de hemoglobina (Patil y Shivaraj, 1984).

Para el fierro el IB indica que los diferentes tejidos superó a la concentración encontrada en el agua, en valores de 4 a 88 veces (Cuadro 5), aunque el Fe fue el metal que alcanzó mayor concentración con respecto al resto de los metales disueltos en agua (Fig. 4).

Los valores extremadamente altos de Fe en los sedimentos propicia que el IB sea bajo para cada uno de los tejidos al compararlos con los valores en sedimentos. De igual manera fue el IB que comparo los valores del contenido estomacal (Cuadro 6) aunque fue notablemente inferior la cantidad de Fe en los artrópodos consumidos por el anfibio (Fig. 8).

Al igual que los demás metales, el Fe se presentó en concentraciones diferenciales en los tejidos analizados y es el metal que alcanzó los valores más altos en la mayor parte de los tejidos (corazón, hígado, riñón e incluso en huevos oviductales).

Se dificulta analizar si los valores encontrados en los organismos está fuera de los normal, debido a la carencia de otros estudios que analicen este metal, aunque es de esperarse grandes valores, ya que el Fe es un metal esencial que participa en el

transporte de oxígeno, de ahí tal vez su mayor cantidad en el corazón e hígado de los organismos.

La cantidad de aluminio en los diferentes tejidos superó de 10 a 151 veces los valores presentes en el agua como lo indica el IB (Tabla A). Sin embargo con respecto a las concentraciones en sedimentos y contenido estomacal, los valores en tejidos se encuentra muy por debajo (Cuadro 6 y 7) lo cual muestra la capacidad de regulación fisiológica de los organismos.

Si bien es cierto que hay concentración diferencial de Al en los diferentes tejidos analizados es imposible saber si estos valores se encuentran entre los valores normales o los sobrepasan, ya que el presente estudio aporta los primeros valores conocidos para los tejidos de *B. valliceps* de la zona agrícola de Meztitlán Hgo. y además se desconoce el papel que juega el Al en la fisiología de los anfibios. Sin embargo parece ser que los valores en los tejidos deben estar influenciados por los altos valores en el medio, ya que es de los metales de mayor concentración en los tejidos. Estudios del efecto del Al únicamente se han abocado a los huevecillos y a los estudios larvales de algunas especies de anfibios; en adultos no se ha elaborado estudios.

CONCLUSIONES

Una vez analizados los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se presenta diferentes niveles de los metales en agua y sedimentos de la laguna de Metztitlán Hidalgo. .
- El Fe y Al presentaron valores significativamente altos con respecto a los demás metales detectados en agua.
- En agua el Cd y Mn rebasan valores permisibles por la normatividad ambiental mexicana.
- En sedimentos el Pb rebasó en un orden del 45.60% lo niveles normales y el Cd esta 6 veces arriba del valor aceptado como normal para suelo por la Organización Mundial de la Salud.
- Los altos valores de Zn en los contenidos estomacales de *B. valliceps* se debe a que los Arácnidos e Isopodos ingeridos suelen acumular el metal.
- El Pb y Cd detectado en los contenidos estomacales muestran la contaminación que sufren los artrópodos.
- Los altos valores de Cu en los contenidos estomacales se debe a que Isopodos y Arácnidos usan la hemocianina para el transporte de oxígeno.
- Se presenta la transferencia de la madre a los huevos de los metales no esenciales como el Pb y Cd que son causantes de graves afectaciones.
- En huevos oviductales la acumulación de los diferentes metales también fue diferencial. Es notable la alta concentración que alcanzo el Fe, Al y Zn en los mismos.
- La presencia de Pb y Cd en los huevos oviductales muestra la transferencia de la contaminación por parte de las madres.
- En los estadios larvales es evidente la bioacumulación de los metales conforme se alcanza mayor desarrollo con un notable descenso cuando se a realizado la transformación a juveniles.

- Se presentó una acumulación diferencial en tejidos de acuerdo al metal.
- La presencia de los diferentes metales en los diferentes estadios de desarrollo de *B. valliceps* es reflejo de la presencia de los metales en el medio (agua y sedimento) y en su alimento.
- De acuerdo a la literatura las diferentes concentraciones de los metales encontradas en el Bufo pueden estar ocasionando problemas en la sobrevivencia en las diferentes etapas de desarrollo de *B. valliceps* en las inmediaciones de la laguna de Meztitlán.

LITERATURA CITADA

- Acosta, Martín (1982) Índice para el estudio del nicho trófico. Ciencias Biológicas. Academia de Ciencias de Cuba (70): 125 - 127.
- APHA-AWWA-WPCF (1992) Métodos normalizados para análisis de aguas potables y residuales. Ed. Días de Santos. Madrid España.
- Anónimo (1988) The other group of scuen the Economist, Whashington D. C. June 89-90.
- Arnett, H. Ross & L. R. Jaques (1981) Guide to insects. Publ. Simon y Schuster New York. 512 pp.
- Baudo, R.(1976) Heavy metals concentrations Cr, Mn and Pb in tadpoles and adults of *Rana esculeta* L. Mem. Ist. Ital. Idrobiol., 33:325-344.
- Beattie, R. C; Aston, R. J. & Milner A. G. (1991) A field study of fertilization and embryonic development in the common frog *Rana temporaria* with particular reference to acidity and temperature. J. Appl. Ecol. 28 (1) 346-357.
- Berrill, M; Bertram, S; Wilson, A; Louis, S; Brigham, D. & Stromberg, C. (1993) Lethal and sublethal impacts of pyrethroid insecticides on amphibian embryos and tadpoles. Environmental Toxicology and Chemistrin 12(3):525-539.
- Beyer, W. N; Pattee, O. H; Sileo, L; Hoffman, D. J. & Mulhern, B. M. (1985) Metal contamination in wildlife living near 2 zinc smelters. Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol. 38 (1) 63-86.
- Blistrabas, R; Gutman, A. M; Kuras, A. V; Mitskin, A. M. & Khusainovene, N. P. (1989) Efect of cadmium ions on the synaptic transmission in the frog *tectum*. Neurofiziologya 21 (6). 756-765.
- Bolaños, F. (1990) El impacto biológico. Problemática ambiental contemporánea. Coordinación General de Estudios de Posgrado. Inst. de Biología UNAM. 302-319, 413-417 pags.
- Bordas, E; Bretter, E; Ghelberg N. W. & Costin, I. (1980) Experimental studies on the toxic effects of a complex of heavy metals including cadmium lead zinc copper and iron from a surface water source. Rev. Ig. Bacteriol. Virusol. Parazitlo. Epidemiol. Pneumoftiziol. Ser. Ig. 29 (1) 17-22.

- Borror, J. Donald & E. Richard White (1970) A field guide to insects of america of North of México. Houghton Wilflin Company Boston. 404 p p
- Borror, J. Donald; M. D. De Long & Charly A. Triplehorn (1981) An introduction to the study of insects. Saunders College Publishing 827 pp
- Boyer, R. & Grue, C. E. (1995) The need for water quality criteria for frogs. Environ. Health-Perspect. Vol. 103, No. 4 pp.352-357.
- Bradford, D. F; Swanson, C. & Gordon, M. S. (1994) Effects of low pH and aluminium on amphibians at high elevation in the Sierra Nevada, California. Canadian Journal of zoology 72(7):1272-1279
- Cantu, Treviño S. (1957) La Vega de Mezquitlán en el Estado de Hidalgo. Bol. Soc. Mex. Geog. Est. 75 (1 - 3)
- Casarett, L. S. (1980) Casarett and Doull' s toxicology, the basic Science of poison. New York. U.S. Mc Millan 778p
- Ceballos, G. (1993) Especies en peligro de Extinción. Ciencias, Volumen especial. 7: 5-10.
- Chinery Michael (1977) Guía de Campo de los Insectos de España y de Europa. Ediciones Omega, S. A. Barcelona.
- Contreras, Altamirano H. (1992) Determinación de los niveles de metales pesados en lodos residuales en plantas de tratamiento de aguas residuales en los estados de México, Morelos, Querétaro y Tlaxcala. Tesis Química Pachuca Hgo.
- Corey, O. G. y Galvao, C. L. (1989) Plomo. Serie vigilancia 8 Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Metepec Edo. México.
- Cotta, Ramusino M. (1980) Water pollution and embryonic development Boll. Zool. 47:263-265
- CPEHS; OPS y OMS (1988) Evaluación Epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales. Limusa, S.A. México, D.F. 727 pp.
- DAPTF (1993) Froglog. IUCN/SSC DAPTF. December, 1993 N° 8.

- D.O.F. (1993) NOM-CCA-032-ECOL/1993 Norma Oficial Mexicana de los límites máximos permisibles de contaminantes en las aguas residuales de origen urbano o municipal para su disposición mediante riego agrícola.
- Dieter, M. P. (1979) Animals as monitors of harmful levels of pollution in the field. *Environm. Pollut.*, 25:123-133.
- Dmowski, K. & Karolewski, M. A. (1979) Cumulation of zinc cadmium and lead in invertebrates and in some vertebrates according to the degree of an area contamination. *Ekol. Pol.* 27 (2) 33-350.
- Eby, J. (1986) Sublethal concentration of cadmium and lead affect acquisition of discriminate avoidance learning in green frog *Rana clamitans* tadpoles. Thesis Miami. Univ. Oxford, OH.
- Ernst, W., Mathys, W., Salske, J. & Jamiesch, P. (1974) Aspekte von Schwermetallbelastungen in Westfalen. *Abh. Landesmus. Naturkd. Munster westfalen*, 36 (2), 1-31.
- Flores-Villeda & Navarro, S. A. (1993) Análisis de los vertebrados terrestres endémicos de mesoamérica en México. Vol. Esp. (XLIV) *Rev. Soc. Méx. Hist. Nat.* pp 387- 395.
- Forstner, V. y G. T. Wittmann (1979) Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlang. Berlin and New York. 475p.
- Freda, J. MacDougall, M. E., McDonald, D. G. & Glooschenko, V. (1991) Amphibian breeding pond in the Sudbury region: Chemical characterization and toxicity to three species of amphibians. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, (In press).
- Galvao, C. L. y G. Corey (1987a) Cadmio. Serie vigilancia 4 Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Métepec, México.
- Galvao, C.L. y G. Corey (1987b) Manganeso. Serie vigilancia 6 Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Métepec, México
- Gary, D.C. 1988. Química Analítica. Editorial Limusa. México.
- Grodzinska, K., Godzik, B., Darowska, E. & Pawlowska, B. (1987) Concentration of heavy metals in trophic chains of Niepolomice forest, S. Poland. *Ekol. Pol.*, 35, 327-44.

- Gutiérrez, M. G. y Sánchez, T. R. (1986) Repartición de los recursos en la comunidad de lacertilios de Cahuacan, Edo. de México. Tesis Biol. E.N.E.P Iztacala, UNAM., México. 177.
- Hah, J. C. (1979) Effects of the heavy metal pollution on the primordial germ cells of developing Amphibians. Korean J. Zool. 21 (2) 43-58.
- Helrich, Kenneth (1990) Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15 edition. Published by the Association of Official Analytical Chemists ICN. Arlington, Virginia USA pp 235-244.
- Herkovits, J. & Perez-Coll, C. S. (1991) Antagonism and synergism between lead and zinc in amphibian larvae. Environmental Pollut. 69 (2-3): 217-222.
- Hopkin, S. P. & Martín, M. H. (1984) Assimilation of zinc, cadmium, lead and copper by the centipede *Lithobius variegatus* (Chilopoda). J. Appl. Ecol., 21, 535-546.
- INEGI y Gobierno del Estado de Hidalgo. (1991) Anuario estadístico del Estado de Hidalgo. 212 pags.
- INEGI (1990) Guía para la interpretación de cartografía Uso del suelo de México 46 p.
- INEGI (1992) Síntesis geográfica del estado del HIDALGO 133 P.
- Ireland, M. P. (1977) Lead retention in toads *Xenopus laevis* fed increasing levels of lead contaminated earthworms. Environ. Pollut. 12 (2) 85-92.
- Jacques, H. E. (1947) How to Know the insects W. M. C. Brown Company Publishers 205 pp.
- Janssen-Martien, P. M. & Réne, F. Hogervorst. (1993) Metal accumulation in soil arthropods in relation to micro-nutrients. Environmental Pollution, 79 (1993): 181-189.
- Katagiri, C. (1976) Properties of the hatching enzyme from frog embryos. J. Exp. Zool., 193, 109-118.
- López Artiguez, M; Soria, M. L; Carmen, A. & M. Repetto. (1993) Cadmiun in the diet of the local population of seville (Spain). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 50:417-424.

- Mathews, R. C. Jr. & Morgan, E. L. (1982) Toxicity of anakeesta formation leachates to Shovel-Nosed Salamander. *J. Environ. Qual.* 11 (1) 102- 106.
- Mega, Harris (1993) Froglog IUCN/SSC Declining Anfibian Populations Task Force No. 3 1-4.
- Mendoza, Quijano F. (1990) Estudio herpetofaunístico en el transecto Zacualtipan-San Juan Meztilán Hgo. Tesis de Lic. Biol. ENEP Iztacala. 97 p.
- Miller C. L. and Landesman (1978) Reducción of heavy metal toxicity to *Xenopus embryos* by toxicol. 20, 93-95.
- Montoya, C. A. y A. Z. Hernández (1981) Intoxicaciones y envenenamiento. Inst. Mex. Seg. Soc., México. 98p
- Muiño, V. Claudia, Ferrari Lucrecia and Salibián Alfredo (1990) Protective Action of ions against Cadmium Toxicity to young *Bufo arenarum* Tadpoles Bull. Environ Contam. Toxicol. 45:313-319
- Niethammer, K. R; Atkinson, R. D; Baskett, T. S. & Samson, F. B. (1985) Metals in riparian wildlife of the lead mining district of southeastern. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 14 (2) 213-224.
- Olechowicz, E. & Mochnacka-Lawacz, H. (1985) Chemical composition of invertebrates related to taxonomic position, tropic conditions and environmental Impact. *Ekol. Pol.*, 33, 123-42.
- Patil, H. S. & Shivaraj, K. M. (1984) Sublethal effects of copper on the blood cells of *Rana Cyanophlyctis*. *Geobios (Jodhpur)* 11(3) 108-111.
- Pechmann, K; Joseph and Wilbur, M. H. (1994) Putting declining amphibian populations in perspective: Natural fluctustions and Human. Impacts. *Herpetologica.* 50(1) 65-84.
- Perkin Elmer (1982) Manual de absorción atómica.
- Peterson, Alvah (1960) Larvae of Insects An Introduccion to Nearctic species. 3 de. Columbus, Ohio. Vol. I.
- Porter, K. R. (1970) Catalogue of American Amphibians and Reptiles pp. 94.1-94.4.
- Pytasz, M; Zawadzka, A; Dolezych, B. & Szmatoch, A. (1980) Tossue respiration in selected poiklothermic species from the katowice ironworks region poland. *Pr. Nauk. Uniw. Slask. Katowicach.* 0 (348) 104-114.

- Roth-Holzzapfel, M. (1989) Multi-element analysis of invertebrate animals in a forest ecosystem (*Picea abies* L) In element Concentration Cadaster in Ecosystems: Methodos of Assessment and Evaluation, ed. H. Lieter & B. Markert VCH, Weinheim, pp 281-295.
- Sadek, I. A. (1988) Short term studies on the effect of cadmium toxicity on the testis of the egyptian toad. Bull. Soc. Amis. Sci. Lett. Poznan. Ser. D. Sci. Biol. 27 (0) 11-16
- Sánchez Mejorada (1977) Manual de campo de Cactaceas y Suculentas de la Barranca de Meztlán, Hidalgo. Soc.Mex. Cact. Publ.# 2.
- Santos, G; Flores Villeda, O. y Mendoza Quijano (1994) La declinación de las poblaciones de anfibios en el mundo ¿Qué está sucediendo en México? Rev. Soc. Méx. Hist. Nat., 45: 125-132.
- Savage, J. M (1982) The enigma of the Central America herpetofauna dispersal on vicariance. Ann- Missou. Bot. Gard. 69(3) 464-547
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1981) Biometry. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- SPP (1983) Carta topográfica , Meztlán, Hidalgo. 1:50 000 F14 D61.
- Taban, C. H; Cathieni, M. & Burkard, P. (1982) Changes in newt *Triturus cristatus* brain caused by zinc water pollution. Experientia (Basel) 38 (6) 683-685.
- Taylor, H. Douglas; Craig, W; Steele and Shari Strickler Shaw (1990) Responses of green frog *Rana clamitans* Tadpoles to lead-polluted water. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol.9 pp 87-93
- Toledo, U. M. (1988) La diversidad Biológica de México. Ciencia y desarrollo 81: 17-30.
- Van Straalen, N. M; Burghouts, T. B; Doornhof, M. J; Groor, G. M; Janssen, M. P; Joose, E. N; Van Meerendonk, J. H; Theeuwen, J. P; Verhoef, H. A. & Zoomer, R. H. (1987) Efficiency of lead and cadmium exception in population of *Orchesella cincta* (Collembola) from various contaminante forest soils. J. Appl. Ecol. 24: 953-968.
- Vasil' Eva, V. F; Gusev, G. P; Krestinskaya, T. V; Burovia, I. V. (1987) Cadmium distribution in tissue and sodium atpase activity in the skin of the fog *Rana*

temporia in various pathways of cadmium uptake by the organism. Zh. Evol. Biokhim. Fiziol. 23 (3) 300-304.

Veleminsky, M; P. Lanicka & P. Stary (1990) Honeybees (*Apis mellifera*) as environmental monitors of heavy metals in Czechoslovakia. Acta. Entomol. Bohemoslov., 87: 37-44.

Wake, D. B. (1991) Declining amphibian populations: A global phenomenon Findings and recommendations. Alytes (Paris) 9(2): 33-42

Walton, T. B. (1989) Insects as indicators of toxicity, bioaccumulation and bioavailability of environmental contaminants. Environmental Toxicology and Chemistry Vol. 8 pp 649-658.

Woodall, C; Maclean, N. & Crossley, F. (1988) Responses of trout fry *Salmo gairdneri* and *Xenopus laevis* tadpoles to cadmium and zinc. Comp. Biochem. Physiol. Comp. Pharmacol. Toxicol. 89 (1) 93-100.

ANEXO I

Valores medios representados en las gráficas; desviación estandar y el rango entre paréntesis.

Agua						
Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
0.23±0.41 (0.04-1.168)	0.05±0.08 (0-0.25)	0.04±0.03 (0-0.1)	0.22±0.17 (0.02-0.05)	0.002±0.0075 (0-0.02)	2.42±2.61 (0.11-7.7)	2.17±2.28 (0-6.46)

Sedimentos						
Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
0.0	36.11±16.26 (13.33-60.0)	6.7±2.39 (3.33-10.0)	364.84±260.91 (43.33-850.0)	0.0	16441.3±6234.57 (7090.0-26970.0)	26540.5±9104.33 (11556.7-40690.0)

Larvas-1						
Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
89.38±12.47 (76.73-101.68)	20.05±2.49 (17.36-22.27)	6.66±1.33 (5.12-7.44)	242.13±13.71 (233.33-257.93)	3.33±1.41 (2.48-4.96)	6804.53±344.71 (6594.87-7202.38)	6873.23±934.227 (6299.5-7951.28)

Larvas-2						
Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
156.36±36.15 (105.63-202.33)	32.85±2.56 (30.70-35.77)	9.76±1.98 (8.77-13.3)	409.12±15.86 (382.19-421.47)	2.66±2.43 (0-4.49)	11770.2±976.85 (10058.4-12484.4)	11502.2±645.96 (10607-12162.2)

Larvas-3

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
58.2±10.31 (37.76-70.86)	10.64±1.13 (8.64-12.58)	1.86±0.11 (1.72-2.09)	177.24±3.30 (171.18-182.54)	0.57±0.57 (0-1.72)	3406.49±363.75 (2699.62-3908.94)	3102.13±606.76 (1889.04-3736.88)

Juveniles

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
20.02±10.26 (0-59.1017)	0	0	18.74±14.62 (0-7693)	7.52±2.71 (2.14-17.73)	318.72±251.43 (44.92-1323.88)	1152.35±268.19 (667.43-1873.52)

Contenido Estomacal

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
70.24±54.84 (0-226.41)	6.33±7.97 (0-27.02)	1.5±2.25 (0-6.34)	16.38±16.8 (0-58.42)	15.35±24.39 (0-109.55)	1971.53±2189.5 (0-6438.44)	1568±2363.1 (0-8754.78)

Riñón

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
47.12±59.38 (15.69-239.02)	0.56±1.24 (0-4.55)	0.0	0.47±1.22 (0-4.55)	2.03±2.76 (0-9.76)	132.34±105.91 (13.08-507.91)	48.43±31.06 (9.43-126.98)

Corazón

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
16.68±16.55 (0-63.44)	0.0	4.46±2.61 (1.83-11.36)	0.0	0.15±0.67 (0-3.02)	215.28±228.65 (26.01-951.69)	0.0

Cuerpos Grasos

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
2.75±1.81 (0-44.07)	0.0	0.0	0.0	0.0	9.82±15.58 (0-48.33)	24.64±32.21 (0-95.19)

Musculo

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
11.92 ±13.22 (4.42-63.73)	4.68±6.95 (0-32)	1.05±1.73 (0-7.11)	0.12±0.52 (0-2.36)	1.31±3.54 (0-11.7)	12.91±10.1 (0-42.49)	19.85±16.83 (0-65.73)

Higado

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
27.61±27.47 (3.8-137.45)	3.14±12.22 (0-54.98)	4.81±21.51 (0-96.21)	6.59±25.96 (0-116.83)	27.22±52.21 (0-240.54)	183.94±193.98 (53.36-756.4)	289.6±472.9 (0-1615.2)

Huevos Oviductales

Zn	Pb	Cd	Mn	Cu	Fe	Al
73.04±28.29 (34.13-101.84)	2.45±4.99 (0-9.99)	0.49±0.9 (0-1.99)	13.49±26.97 (0-53.95)	1.49±2.99 (0-5.9)	177.86±355.71 (0-711.43)	142.8±285.77 (0-571.54)

ANEXO II

ESTI TESTE M9 OFE
 SIDA
 ECA

Unidades comunes para expresar concentraciones de metales traza.

UNIDAD	ABREVIATURA	PESO/PESO	PESO/VOL	VOL/VOL
Parte por millon (1 ppm = 10 ⁻⁴ %)	ppm	mg/kg	mg/l	µl/l
		µg/g	µg/ml	nl/ml
Parte por mil millo- nes (1 ppb = 10 ⁻⁷ % = 10 ⁻³ ppm)	ppb	µg/kg	µg/l	nl/l
		ng/g	ng/ml	pl/ml ^a
Miligramo por ciento	mg %	mg/100ml		

^apl = Pícolitros = 10⁻¹²
 Gary (1988).