



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**“EFECTO DE LOS METALES PESADOS ZINC Y MERCURIO SOBRE
CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DEL OSTRACODO *Heterocypris
incongruens* (OSTRACODA: CRUSTACEA)**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A**

SARA IRENE ROSALES LEMUS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. SINGARAJU SRI SUBRAHMANYA SARMA.



LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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

A Dios por poner en mi camino los conductos necesarios para poder llegar a la meta, por mi familia, por los amigos y por los momentos tan maravillosamente compartidos.

A mis padres Lidia y Anselmo por su amor, comprensión, cariño y apoyo incondicional brindado durante toda mi vida.

A mis hermanas Aurea, Leova, Susana, Hilaria y Marisan por su cariño y los momentos compartidos, a todos mis sobrinos y mis cuñados.

Al B. V Zumpango y al M. B.V en general por devolverme la vida y enfrentarme a ella, por enseñarme que existen cosas valiosas en mi vida.

A Nadia por enseñarme que en esta vida toda cuesta y se logra a base de esfuerzo.

A Eduardo por hablarme siempre con la verdad, por su cariño, por su ternura, por su amor incondicional por estar conmigo en los momentos difíciles y por compartir conmigo momentos especiales, y por que lo amo.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM por haberme abierto las puertas y por permitirme concluir mi carrera dentro de la FES Iztacala y a esta última por ser como mi segunda casa, por los conocimientos, por los maestros, los amigos y la gente que aquí conocí

Al Doctor Sarma por el empeño, apoyo y motivación para la realización de este trabajo.

A la Doctora Nandini por enseñarme que todos tenemos la capacidad de lograr grandes cosas y además por la colaboración importante en este trabajo.

Al Doctor Pedro Ramírez por la revisión de este trabajo ya que me fue de gran utilidad.

Al profesor José Luis Gama Flores por abrirme las puertas del laboratorio de Zoología acuática y por el apoyo incondicional.

Al Doctor Sergio Chazaro Olvera por su colaboración en la revisión de este trabajo.

A cada una de las personas del T.L. José, Armando, Señor Sabino y Enrique. Al señor Jesús por su gran amistad, por su sonrisa y por sus atenciones.

A Victoria Cazares Hernández (Vicky) alguien muy especial con quien compartí penas y alegrías y aunque solo fue por algún tiempo fueron momentos importantes en mi vida.

.A mis amigos Eduardo Jiménez Quiroz (lalicles), José Luis Zarate (flaquito), Andrés Rodríguez Velásquez (chuleta), Leticia Tellez Velásquez (Candy), Karina Guardado Morales (karisocia), Edgar Oaxaca (payaso tu...), Hugo Enrique Trujillo (hugopigido), Patricia Chairez (mirmecopatya), Eufrosina Loaiza (Eu), Mariana Hernández, Manuel Ayala Razo (Manuelito), Oscar Pineda Chávez, Eduardo Mendiola, Bernardo, Víctor (ñoño), Georgina (amigallina) Rigoberto Romualdo Romualdo (corre corre como conejo), Valentín (tin-tin), Carmen Castillo (risitos de oro), Monica Rangel, Israel Camargo, Erika (Erikilla), Alberto, Inés y Cecilia. Por la amistad y por todos los momentos juntos.

A todos y cada uno de los chavos del laboratorio quienes en su momento participaron directa e indirectamente en este trabajo. Carmen Serranía, Iris, Elisa Picazo, Diego Chaparro, Fabiola Peña, Karina, Gerardo Serón, Gerardo García, Alejandro Alva, Cecilia y Lucía Pavón.

A la profesora Yolanda Zepeda por permitirme compartir sus conocimientos conmigo ya que de alguna manera contribuyó para dar fin a este trabajo.

INDICE	
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	11
JUSTIFICACION	13
OBJETIVOS	14
MATERIALES Y METODOS	15
DIAGRAMA DE FLUJO	16
RESULTADOS	21
➤ Concentración letal media con zinc	22
➤ Concentración letal media con mercurio	23
➤ Curvas de sobrevivencia con mercurio y zinc	24
➤ Curvas de esperanza de vida con mercurio y zinc	25
➤ Curvas de fecundidad de edad específica	26
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS	36
ANEXO	40

RESUMEN

Existen metales pesados no esenciales para la vida de los organismos, como es el caso del mercurio el cual es potencialmente tóxico tanto para la salud humana como silvestre. Por otro lado se encuentran aquellos que son esenciales para el desarrollo de los organismos pero que llegan a ser tóxicos cuando se encuentran en concentraciones relativamente elevadas, como ejemplo encontramos al zinc. La gran parte de los estudios toxicológicos se han realizado con cladóceros y rotíferos pero pocos son los trabajos con ostrácodos específicamente con *Heterocypris incongruens*. Por lo que se realizaron pruebas de toxicidad aguda y crónica para evaluar los efectos de diferentes concentraciones de mercurio (0.0012mg/l, 0.0025mg/l y 0.005mg/l) y zinc (0.075mg/l, 0.15mg/l y 0.3mg/l) y *Chlorella vulgaris* como alimento 0.5×10^6 células/ml para ambos metales. Se obtuvieron valores de CL_{50} de 0.81 ± 0.12 mg/l para el mercurio y 2.69 ± 0.65 mg/l para el zinc. El promedio de vida para el grupo testigo fue de aproximadamente 16 días y disminuyó al aumentar la concentración de zinc de 0.075mg/l hasta 0.3mg/l para el caso del mercurio el promedio de vida aumento al incrementarse la concentración de 0.0012 mg/l hasta 0.005mg/l. La sobrevivencia con el zinc fue de 20 días y de 60 días para el mercurio con respecto al grupo control, la reproducción fue más alta con mercurio que con zinc al igual que la esperanza de vida. La tasa de crecimiento poblacional fue negativa para ambos metales excepto para la concentración de mercurio de 0.0012mg/l, el tiempo generacional en el caso del zinc varió entre 8 y 25 días, mientras que para el mercurio fue de 25 a 38 días. Concluyendo que es importante en próximos trabajos tomar en cuenta la concentración de alimento debido a que a bajas densidades los organismos invierten más energía en la reproducción, esto sobre todo para el caso del mercurio, también se recomienda seguir haciendo estudios con *H. incongruens* por ser una especie béntica y juega un buen papel como indicador.

INTRODUCCIÓN

El incremento en los niveles de los metales pesados en la biosfera, es el resultado de perturbaciones originadas por el hombre en el medio ambiente o por fenómenos geológicos como son las erupciones volcánicas. Se sabe que en las últimas décadas se ha incrementado la contaminación de la atmósfera, los ríos, los océanos y suelos por metales pesados, como consecuencia de la actividad industrial y de la explotación minera. El impacto ecológico de los metales se deriva principalmente de las observaciones en los sistemas acuáticos que reciben los desechos de la minería, aguas cloacales, descargas industriales o sedimentos con demasiado contenido metálico (Connel, 1984; Páez-Osuna, 1996; Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999).

Para llevar a cabo sus funciones los organismos, vivos requieren de diversos iones inorgánicos esenciales como son: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- etc. Otros iones, que también se hallan en el ambiente son ya sea tóxicos y sin ninguna actividad biológica asociada, por ejemplo metales pesados tales como plomo, mercurio, cadmio y plata. Por otro lado se encuentran aquellos que son esenciales pero que llegan a ser tóxicos cuando se encuentran en concentraciones relativamente elevadas, tal es el caso del cobre, zinc, níquel y cobalto. Por lo general se acepta que los metales pesados son aquellos cuya densidad es mayor a 5 g/ml en relación a la densidad del agua (Moss, 1980)

Como efecto secundario y consecuencia del desarrollo industrial y la creciente urbanización en México se registra una importante y creciente carga ambiental, proveniente de sitios contaminados. Sobre todo debido a varios siglos de actividad minera y desde hace algunas décadas, a la intensa explotación petrolera, actualmente en México se puede detectar una considerable contaminación de suelos por hidrocarburos y metales pesados (Méndez et al., 2002; Ruiz-Fernández et al., 2003).

De los metales mencionados se conoce que el mercurio es un metal no esencial para la vida de los organismos y que todas las formas del mercurio son potencialmente tóxicas tanto para la salud humana como silvestre. La

contaminación del agua por mercurio se debe a las industrias químicas que producen cloro, plásticos, fábricas de fungicidas y de pinturas contra hongos, por minas de cinabrio (sulfuro de mercurio, HgS), en la extracción de oro y de plata por el método de amalgamación y por las refinerías del petróleo (Duffus,1983). Se considera que la mitad del mercurio extraído es arrojado al medio ambiente, una parte en forma de vapor a la atmósfera y otra en los desechos industriales al suelo y al agua.

En lo que respecta al zinc, es un elemento indispensable para el desarrollo de los organismos en cantidades mínimas, es relativamente tóxico en concentraciones altas; y su toxicidad se incrementa en presencia de otros metales como el arsénico, cadmio y plomo; se le ha incluido dentro de los tóxicos que inducen el rompimiento endocrino en los invertebrados marinos (Depledge & Billinghamurst, 1999).

Límites de toxicidad

La Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los Estados Unidos ha determinado una serie de límites para las concentraciones de metales pesados. Por encima de esos niveles los metales pueden causar graves trastornos en los seres vivos, y finalmente ocasionar la muerte. A continuación mostraremos dichos límites en distintos medios y las dosis máximas para la ingesta en los humanos (Sheiner et al., 1989)

Límites máximos permitidos para preservar la vida acuática en sistemas de agua dulce (ríos y lagos):

Metal	Límite máximo (µg/l)
As	50
Be	130 (+)

Cd	0.66 (*)
	1.10 (*)
	2.00 (*)
Cu	6.50 (*)
	12.00 (*)
	21.00 (*)
Hg	0.012 (*)
Ni	56.00 (x)
	96.00 (x)
	160.00 (x)
Pb	1.30 (*)
	3.20 (*)
	7.70 (*)
Zn	180.00 (#)
	320.00 (#)
	570.00 (#)

+: Concentración promedio por 1 hora; x: concentración promedio, en 24 horas; *: concentración promedio en 4 días; #: niveles que no pueden excederse en ningún lapso de tiempo.

Límites máximos permitidos para preservar la vida acuática estuarina o en zonas de costas:

Metal	Límite máximo ($\mu\text{g/l}$)
As	50
Cd	8 (*)
Cu	2.9 (+)
Hg	0.025 (*)
Ni	7.10 (x)
Pb	5.8 (*)

Zn	76.6 (*)
----	----------

+: Concentración promedio por 1 hora; x: concentración promedio, en 24 horas; *: concentración promedio en 4 días.

Dosis máximas permitidas en aguas para consumo humano:

As	50 µg/l (+)
Cd	10 µg/l (*)
Cr	50 µg/l (+)
Cu	1.0 µg/l (#)
Hg	144000 µg /l (*)
Ni	632.0 µg/l (*)
Pb	50.0 µg/l (*) (adultos)
Zn	5.0 µg/l (*)

*: Criterios para el agua; +: máximo nivel de contaminación; #: nivel que jamás debe ser superado.

La ecotoxicología es la disciplina que se encarga de estudiar el destino y los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, intentando explicar las causas y prever los riesgos probables (Duffus, 1983). Algunos de los ensayos toxicológicos que actualmente se llevan a cabo son las pruebas agudas y crónicas (ciclos generacionales) que se realizan en comunidades de microcosmos y mesocosmos. En estas pruebas se mide el tiempo de respuesta de las comunidades ante un agente tóxico. Los efectos de dicho agente se dividen en: efectos a corto plazo (parte del período generacional del individuo) y efectos de larga duración (transgeneracionales) (Gama y colaboradores, 2001).

Los efectos de corta duración se abordan mediante las pruebas de toxicidad aguda, que se evalúan con la concentración letal media (CL₅₀), (en esta prueba se estima la concentración a la cual muere el 50% de la población experimental).

Los efectos de larga duración se abordan mediante las pruebas de toxicidad crónica, que se evalúa en generaciones subsecuentes, demografía y ciclos de vida que se definen por los efectos a largo plazo, y a su vez pueden estar relacionados con cambios en el apetito, metabolismo, mutaciones, reproducción, crecimiento y muerte (Gama y colaboradores, 2001).

Debido a la gran cantidad de actividades antropogénicas y a los daños que estas provocan, en las últimas tres décadas el estudio de la ecotoxicología ha tomado gran interés y se ha empleado ampliamente a los organismos invertebrados en pruebas estándar debido a su gran sensibilidad a los tóxicos (Reynoldson, 1989). Además, son organismos con altas tasas de crecimiento, un rasgo que permite responder rápidamente a ambientes cambiantes (Conde-Porcuna, 2004).

Los ostrácodos, son pequeños crustáceos, encerrados en un caparazón bivalvo, sus valvas elípticas están impregnadas de carbonato cálcico; en la parte dorsal hay una charnela bien diferenciada formada por una tira de cutícula no calcificada (Barnes, 1996). Poseen dos pares de antenas, provistas de largas sedas “nadadoras”, mandíbulas, maxilas y varios pares de patas progresivamente reducidas. Mandíbulas, maxilas y las primeras patas tienen los exopodios en forma de “placas vibrátiles” expansiones laminares con radios o lacinas en los bordes, que con el palpo de las mandíbulas, forman un mecanismo de bombeo y respiración. El cuerpo termina en una furca con dos ramas terminadas en sedas o espinas no raramente atrofiadas. Muchos ostrácodos se mueven por el sedimento mediante movimientos pulsátiles de las antenas y las ramas caudales (Wetzel, 1981). Los ostrácodos ocasionalmente podemos encontrarlos en la columna de agua pero la mayoría de ellos están asociados con la vegetación acuática y los bentos en cuerpos de agua.

Los ostrácodos de agua dulce miden entre 0.35 y 4mm: la reproducción es partenogenética en gran parte de su ciclo vital. En algunas especies no se han encontrado machos, en otros hay reproducción sexual normal con presencia de machos y hembras. El desarrollo de los huevos puede durar entre unos días y

algunos meses y depende sobre todo de la temperatura. Algunas especies, en especial aquellas que son temporalmente dulceacuícolas producen huevos muy resistentes a la desecación (Barnes, 1996). La larva nace en forma de nauplio con un reducido número de apéndices y sufre una serie de estadios de crecimiento o mudas, normalmente ocho, durante las cuales la morfología se va haciendo más compleja y se van desarrollando los apéndices hasta alcanzar el noveno estadio o estadio adulto. La duración de la vida es de uno a cinco meses, pero algunas especies viven más de un año (Margaleff, 1981). En cuanto a su alimentación se refiere, son omnívoros y, al igual que los microcrustáceos cladóceros, se alimentan de bacterias, algas, detritus y otros microorganismos por medio de la filtración (Wetzel, 1981).

La mayoría de las especies de los ostrácodos como se mencionó anteriormente presentan una reproducción de tipo sexual y alguna de las especies como es el caso de *Heterocypris incongruens*, presenta una reproducción partenogenética y se ha logrado cultivar bajo condiciones de laboratorio, bajo condiciones adversas producen huevos de resistencia lo que impide que corran el riesgo de morir por desecación antes de completar su ciclo de vida; son de gran utilidad para la Paleolimnología, en su mayoría constituyen parte importante de la dieta de peces bentívoros, son organismos bentónicos importantes en la cadena alimenticia, además de ser indicadores de la calidad del agua (Spencer y Blaustein, 2000).

Clasificación taxonómica (Sunkad y Patil, 2004)

Phylum: Arthropoda

Superclase: Crustacea

Subclase: Malacostraca

Orden: Ostracoda

Familia: Cyprididae

Género: *Heterocypris*

Especie: *incongruens*.

ANTECEDENTES

Los efectos del mercurio en el rotífero *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotífera) fueron evaluados por Ramírez et al., (2003) por medio de tabla de vida demográfica con dos concentraciones de *Chlorella* como alimento. En general, a altos niveles de alimento resulta alta la tasa de crecimiento poblacional. Excepto el tiempo generacional, todas las otras variables derivadas fueron significativamente influenciadas.

De Shampelaere et al. (2004) evaluaron la toxicidad del zinc en la reproducción de *Daphnia magna* por medio del alga verde *Pseudokirchneriella subcapitata* expuesta a diferentes concentraciones de zinc. Infiriendo que el efecto negativo en la reproducción está relacionado probablemente a la acumulación en áreas específicas, tejidos o células

Sobre toxicidad por metales pesados existe información del efecto tóxico agudo y crónico del mercurio y el cadmio sobre el cladóceros "*Alona rectangularis*" (Brand Arzamendi, 2003). Dicha autora valoró la toxicidad mediante las respuestas de crecimiento poblacional (del cladóceros, así como también su máxima densidad y el tiempo en que la alcanza). Concluyendo que el mercurio resultó más tóxico que el cadmio.

Los efectos de exposición al zinc en el poliqueto *Dinophilus gyrociliatus* fueron evaluados por Mauri et al. (2003) con tablas de vida, concluyendo que el zinc no tiene efectos en la edad ni en la madurez de los individuos, lo cual induce un ligero incremento en la fecundidad en las fases reproductivas en las concentraciones más altas.

Chial y Persoone (2003) realizaron pruebas de toxicidad en sedimentos de ríos contaminados de Bélgica y Canadá por medio del Ostracotoxkit FTM utilizando neonatos nacidos de quistes de *H. incongruens*, en 6 días y se comparan con las pruebas realizadas en *Hyallolella azteca* y *Chironomus riparius* las cuales duraron 10 días. Así mismo se realizaron pruebas en 15 suelos contaminados en donde la sensibilidad fue evaluada en comparación con los ensayos de 28 días en la inhibición de la reproducción del insecto *Folsomia candida* y mostrando que *H. incongruens* es más sensible que el insecto y que en ambos

casos la mortalidad de los ostrácodos es el resultado de las partículas de tóxico adheridas a los sedimentos.

Específicamente sobre toxicidad aguda y crónica con metales pesados como el cadmio y el mercurio en el ostrácodo *Heterocypris incongruens* (Lucrecia, 2005) evaluó dichas toxicidades mediante las respuestas de tabla de vida demográficas. Concluyendo que el cadmio resultó ser más tóxico que el cobre, y las variables más afectadas fueron las reproductivas.

JUSTIFICACION

Específicamente a *Heterocypris incongruens*, se le ha asociado a pruebas de toxicidad ya que la constitución de sus conchas permite la absorción de metales pesados lo cual facilita el estudio de los metales asociados a los sedimentos, también se le ha utilizado en pruebas de parasitología, sin embargo son muy pocos los trabajos realizados con esta especie en el área de la ecotoxicología a pesar de que también se le encuentra en México, sin embargo, la mayoría de los trabajos se han realizado con cladóceros y rotíferos. Además otro punto importante es que algunos metales son esenciales para los organismos pero otros no aunque sabemos que ambos esenciales y no esenciales causan daños a concentraciones elevadas como es el caso en este trabajo del zinc y del mercurio respectivamente.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de los metales pesados (zinc y mercurio) sobre el comportamiento demográfico y sobrevivencia del ostrácodo *Heterocypris incongruens* (Ostracoda: Crustácea)

Objetivos Particulares

Estimar la toxicidad aguda de los metales zinc y mercurio por medio de la CL₅₀ en el ostrácodo *Heterocypris incongruens*

Valorar la toxicidad crónica por medio de variables demográficas, tablado vida y de sobrevivencia del ostrácodo.

MATERIALES Y METODOS

Cultivo de los organismos experimentales (microalga y ostrácodos)

El cultivo de *Chlorella vulgaris* se realizó en botellas de plástico de dos litros en condiciones asépticas a una temperatura de 25- 26° C, utilizando medio basal de Bold (Gama, 2001) agregando como fuente de carbono carbonato de calcio cada tercer día durante el crecimiento del alga, la cual se cosechó cuando se alcanzó una densidad de alrededor de 25×10^6 células/ml, en un tiempo aproximado de 15 días. Para llevar a cabo la cosecha se realizó una sedimentación desechando el sobrenadante para posteriormente resuspender en medio EPA. Para cuantificar la densidad de alga se utilizó un hematocitómetro. El alga cosechada se conservó en el refrigerador a 4 °C antes de utilizarse, sin embargo después de dos semanas el alga no se debe usar como alimento para organismos experimentales, en este caso para los ostrácodos, puesto que de esta manera nos aseguramos que los organismos no sufrirán cambios por la calidad nutricional del alimento.

Heterocypris incongruens (Fotografía 1 y 2) fue aislado de un cuerpo de agua de la Ciudad de Guanajuato y se cultiva masivamente desde el año 2000. El medio utilizado para el cultivo de la especie mencionada fue por medio de la solución fisiológica conocida como EPA, la cual se preparó con 0.04 g de cloruro de potasio, 1.2 g de sulfato de magnesio, 1.2 g de sulfato de calcio y 1.9 g de bicarbonato de sodio en 20 litros de agua destilada (Anon. 1985).

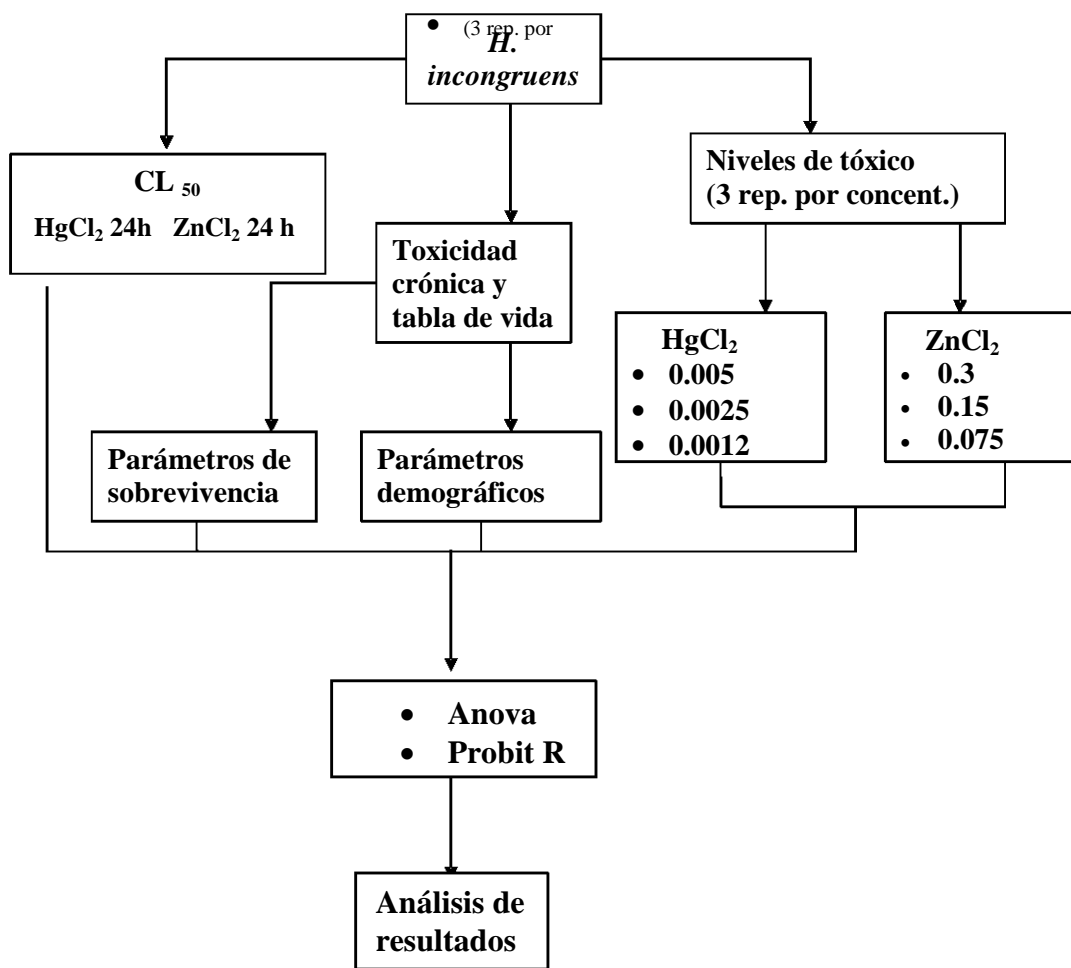
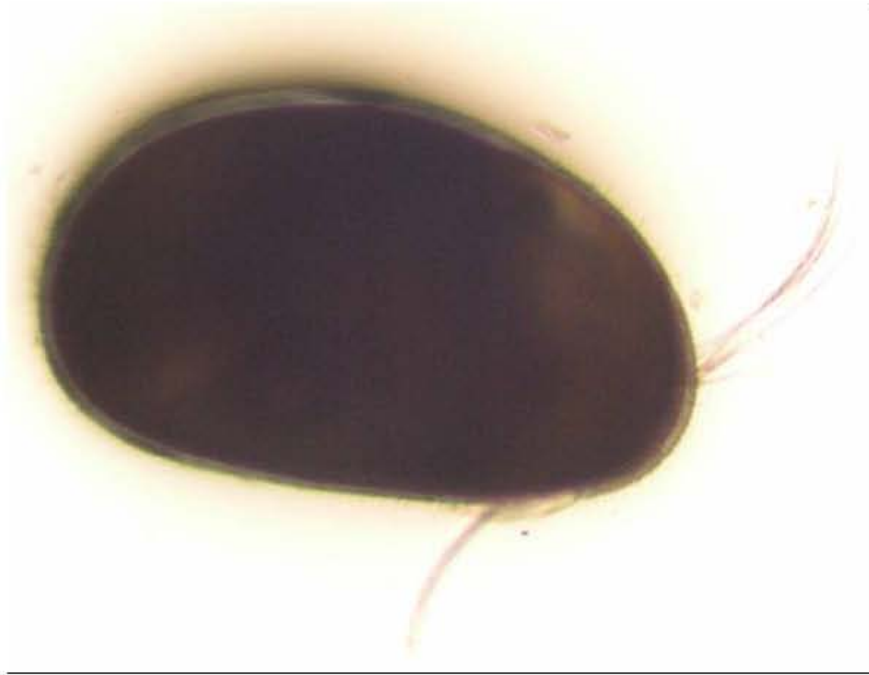
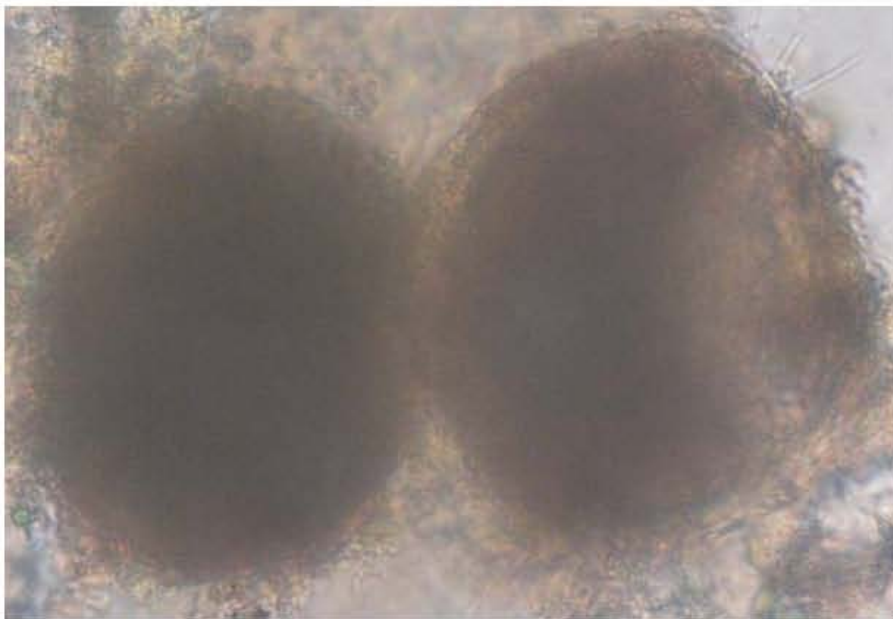


Fig. 1 Diagrama que muestra la metodología utilizada



Fotografía 1. Longitud de la valva del individuo adulto de *H. incongruens* ($1076 \pm 112 \mu\text{m}$, 10x)



Fotografía 2. Longitud promedio de huevos partenogenéticos de *H. incongruens* (longitud: $114 \pm 2 \mu\text{m}$, 10x)

Diseño experimental

Para los estudios experimentales se utilizaron reactivos de grado analítico (cloruro de zinc y cloruro de mercurio). De ambos metales se prepararon soluciones madre, disolviendo 1g/L en 1L de agua destilada, la cual fue colocada en frascos ámbar y se les mantuvo en refrigeración hasta su uso.

Para la búsqueda del intervalo de prueba, en vasos transparentes se colocaron 20 individuos neonatos de la especie *Heterocypris incongruens* con diferentes concentraciones nominales de zinc (2.5, 1.25 y 0.6mg/l) y mercurio (1.6, 0.8, 0.4 y 0.2 mg/l) como tóxico en 20 ml de toxico sin alimento y con tres replicas más un grupo control. Posteriormente se contaron los organismos vivos y muertos en un microscopio estereoscópico en una caja de acrílico, después de 24 horas para poder de esta forma determinar el intervalo de concentraciones que fueron letales y no letales para *Heterocypris incongruens*.

Concentración letal media

Con el patrón de mortalidad se redujo el intervalo de las concentraciones letales para derivar la concentración letal media. Para cada nivel del tóxico se utilizaran 3 replicas con 20 individuos y un grupo control de neonatos de *H. incongruens* con menos de 24 horas de nacimiento.

Los experimentos de la CL_{50} se realizaron sin alimento, y se mantuvieron a 25°C posteriormente se realizó el conteo de los organismos vivos y muertos bajo el microscopio estereoscópico, el criterio de muerte para los organismos fue la ausencia de movimiento (Sarma y Nandini, 1999).

Los datos obtenidos se transformaron utilizando el método de Probit. Una vez realizado esto se determinaron los niveles del tóxico para realizar las pruebas de toxicidad crónica.

Tabla de vida demográfica

De acuerdo a los valores de CL_{50} se seleccionaron tres niveles subletales de cada uno de los metales pesados y tres réplicas para cada una de las

concentraciones, además de un grupo testigo, el experimento se realizó en vasos de plástico, conteniendo cada uno de ellos 20 neonatos de *H. incongruens* de 24 horas de nacidos en 20 ml de tóxico y utilizando como fuente de alimento *Chlorella vulgaris* con una densidad de 0.5×10^6 células/ml. Al grupo testigo se le mantuvo únicamente con el cultivo de algas a la densidad ya mencionada. Las concentraciones evaluadas para el mercurio fueron de 0.005, 0.0025, 0.0012 mg/l y para el zinc fueron de 0.3, 0.15, 0.075 mg/l dichas concentraciones se prepararon por el método de diluciones seriadas a partir de la solución madre. El medio se cambió diariamente, contando y quitando los descendientes y los muertos de cada cohorte, el experimento finalizó cuando todos los organismos murieron.

Para la tabla de vida se analizaron las siguientes variables (Krebs, 1985):

(i) Variables de sobrevivencia:

- (a) Esperanza de vida después de eclosión
- (b) Longevidad
- (c) Promedio de vida

(ii) Variables reproductivas:

- (a) Tasa reproductiva bruta
- (b) Tasa reproductiva neta
- (c) Tiempo generacional

(d) Tasa de incremento poblacional $r = \frac{\ln R_0}{T}$

$$\text{Sobrevivencia} = \frac{N_x}{N_0}$$

$$\text{Esperanza de vida} = \frac{T_x}{l_x}$$

$$\text{Reproducción bruta} = \sum_{x=0}^{\infty} m_x \text{ donde } m_x \text{ es fecundidad}$$

Tiempo generacional = $\frac{\sum l_x m_x}{R_0}$ donde l_x es sobrevivencia

m_x fecundidad

X es la edad

Tasa reproductiva neta = $\sum l_x m_x$ donde l_x es sobrevivencia

m_x es fecundidad

Morfometría

Para establecer una relación entre el tamaño del cuerpo del individuo y el de la excreta se midió el tamaño de los diferentes individuos de *H. incongruens*. Se utilizaron 20 individuos de diferentes tamaños, cada organismo se colocó por separado en un frasco con *Chlorella vulgaris* como alimento a una densidad de 1×10^6 células/ml por un día.

Las mediciones se realizaron al día siguiente con ayuda del microscopio óptico y la cámara clara con una escala lúcida de 13X y el ocular 10X. Los organismos y las excretas se dibujaron en escala de centímetros y posteriormente los datos se transformaron en μm .

RESULTADOS

En cuanto a los datos morfométricos se obtuvieron promedios para cada una de las fases medidas, tales como adultos, neonatos y de los huevos ancho y largo (Ver Tabla 1). Ahora bien para el caso de los datos de las mediciones de los individuos en relación con el tamaño de la excreta se presentan en la figura 2; de acuerdo a la figura existió una relación positiva y significativa (coeficiente de correlación es de 0.80, $p < 0.01$) entre el tamaño del cuerpo y la excreta de *H. incongruens* (fotografías 1 y 2). Cabe mencionar también, que su ciclo de vida fue de aproximadamente 60 días.

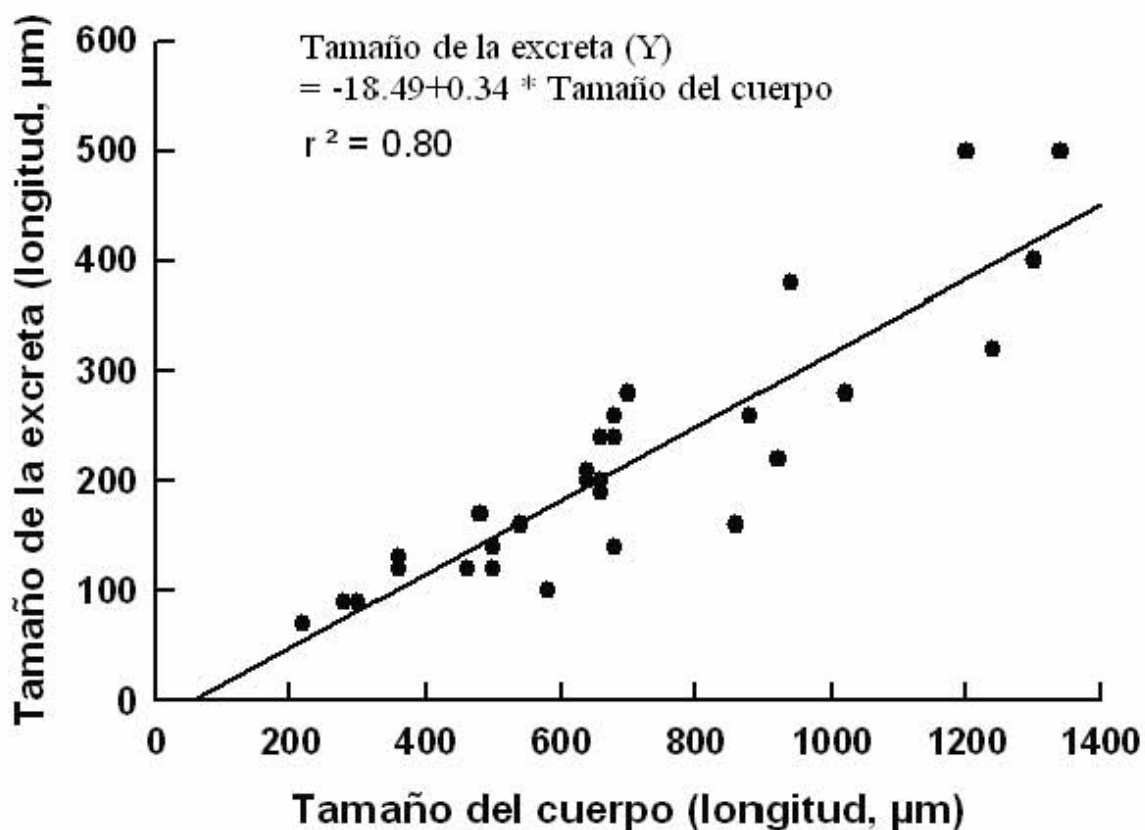


Figura 2. Relación entre el tamaño de cuerpo y el tamaño de la excreta de *H. incongruens*

Tabla 1. Datos morfométricos de *H. incongruens* (individuos adultos, neonatos y huevos). Se presenta el promedio \pm error estándar basado en 10 observaciones para cada una de las etapas.

FASE	MEDIDA
Adultos	1076 \pm 112.8
Neonatos	274 \pm 17.40
Huevos (ancho)	113.7 \pm 2.45
Huevos (largo)	137.8 \pm 5.51

Los resultados de la CL_{50} para el caso del Zinc fue de 2.69 \pm 0.65 mg l⁻¹ en tanto que para el mercurio fue de 0.81 \pm 0.12 mg l⁻¹ (figs 3 y 4).

De acuerdo con las curvas de sobrevivencia representadas en las gráficas, podemos observar tanto en el grupo testigo como para las dos concentraciones más bajas un comportamiento semejante, ya que la pérdida de los organismos es muy baja en comparación con la concentración más alta, la cual presenta una gran pérdida de los individuos (ver fig. 5).

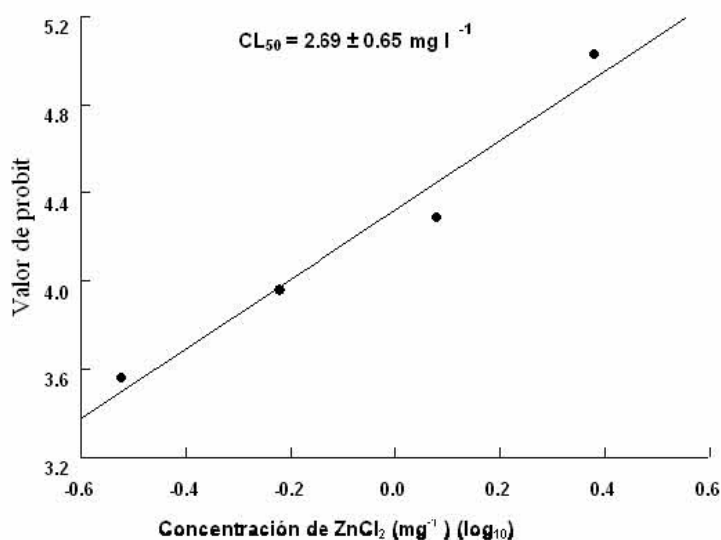


Fig. 3 Derivación de concentración letal media de cloruro de zinc (concentraciones nominales) para *H. incongruens* mediante el método de Probit.

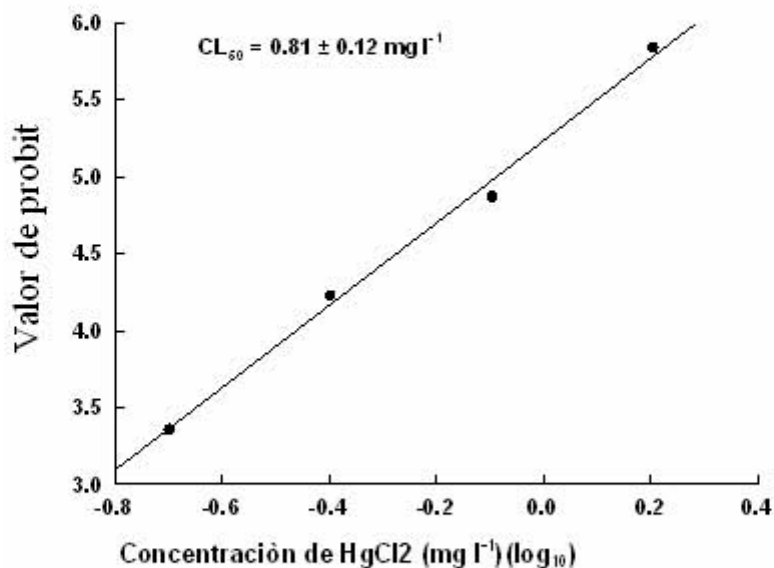


Fig. 4 Derivación de concentración letal media de cloruro de mercurio (concentraciones nominales) para *H. incongruens* mediante el método de Probit

En cuanto a la esperanza de vida podemos observar que las concentraciones más bajas son similares con respecto al grupo control, sin embargo la concentración más alta exhibe una esperanza de vida más corta, siendo esta última de aproximadamente 20 días (ver fig. 6).

En cuanto a la reproducción, podemos observar que para el grupo testigo comenzó a partir del día 20 al igual que para la concentración de zinc de 0.075mg/l aunque cabe destacar que la reproducción fue muy baja, otro punto importante es que para las concentraciones más altas no se presenta reproducción. Sin embargo para el caso del mercurio, aunque la reproducción comenzó el mismo día para las tres concentraciones usadas de 0.0012mg/l, 0.0025mg/l y 0.005mg/l se observa que la reproducción fue disminuyendo conforme fue en aumento la concentración del tóxico (ver fig. 7).

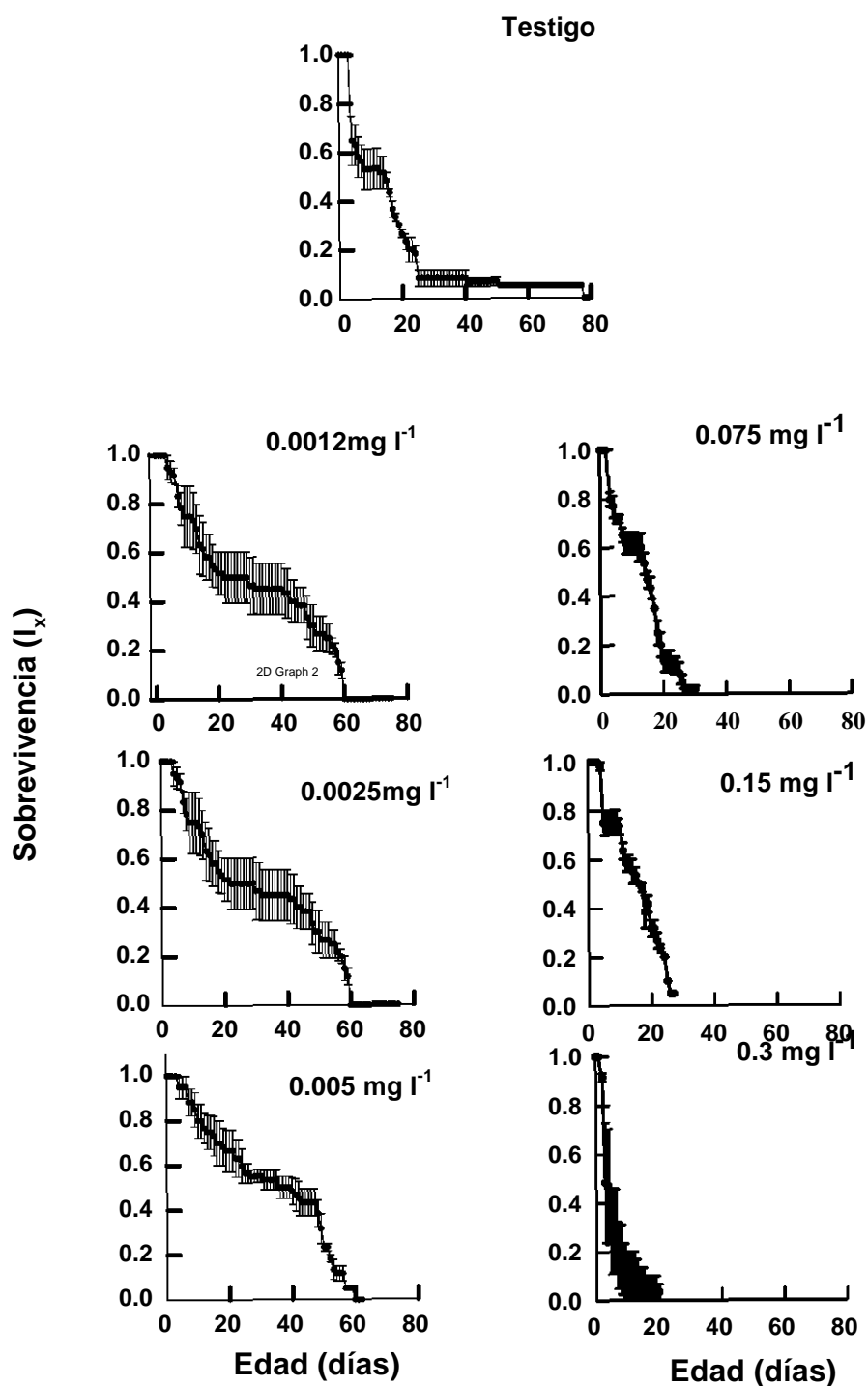


Fig. 5 Curvas de sobrevivencia de *H. incongruens* bajo diferentes concentraciones de cloruro de zinc (columna 1) y cloruro de mercurio (columna 2). Se presenta el promedio y el error estándar basándonos en tres replicas para cada tratamiento.

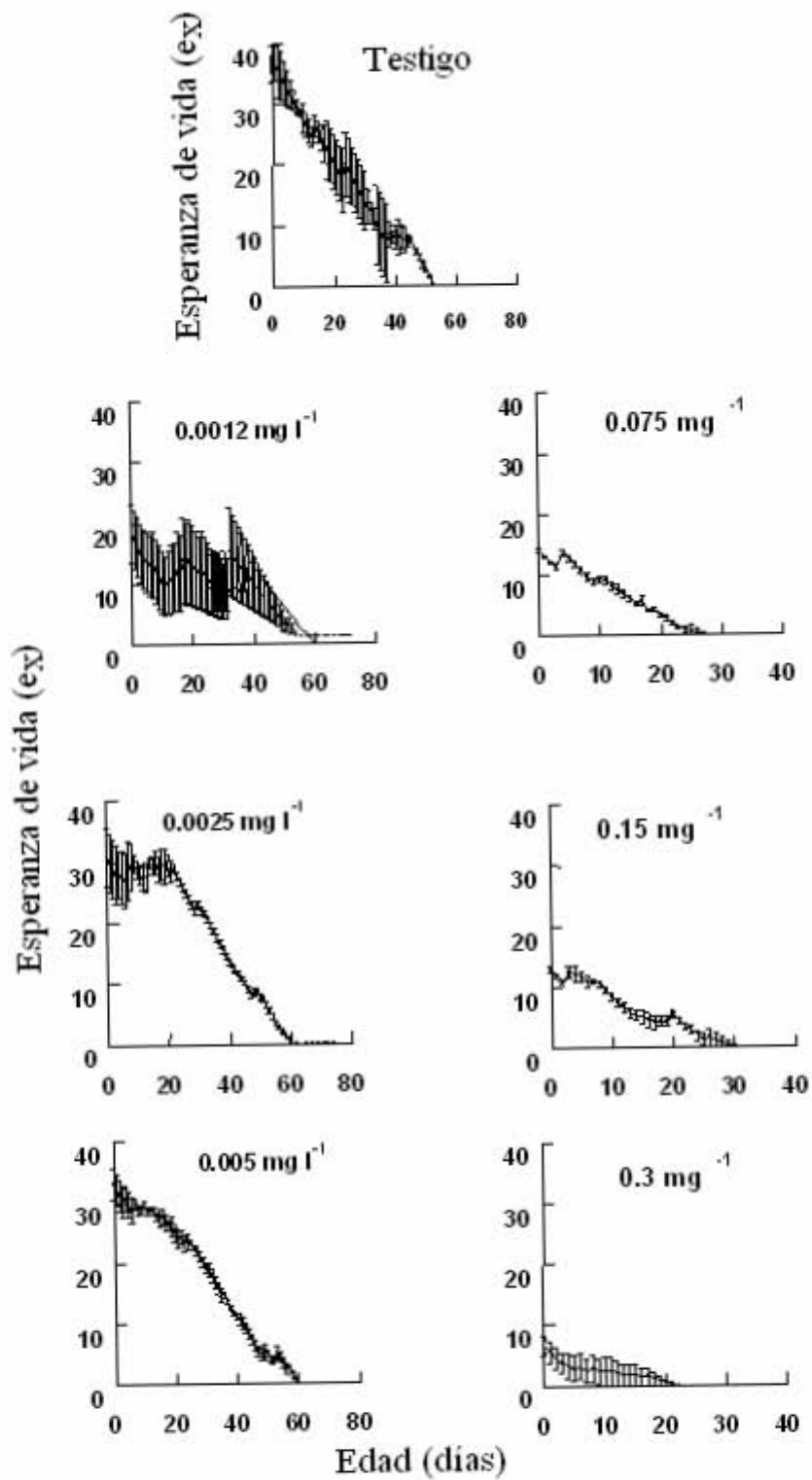


Figura 6. Curvas de esperanza de vida de *H. incongruens* bajo diferentes concentraciones de cloruro de zinc (columna 1) y cloruro de mercurio (columna 2). Se presenta el promedio y el error estándar basándose en tres replicas para cada tratamiento

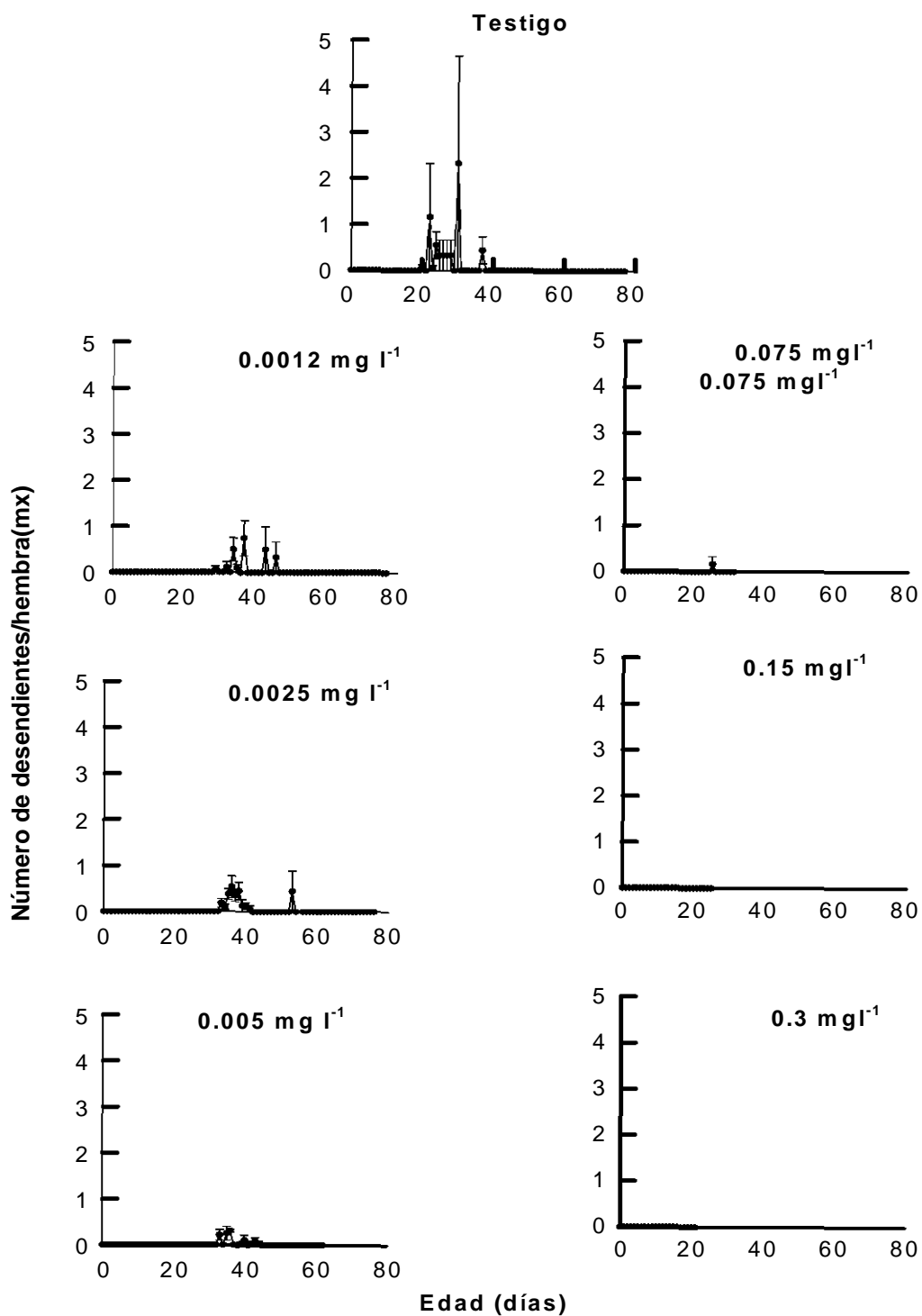


Figura 7. Curvas de fecundidad de edad específica de *H. incongruens* bajo diferentes concentraciones de cloruro de zinc (columna 1) y cloruro de mercurio (columna 2). Se presenta el promedio y el error estándar basándonos en tres replicas para cada tratamiento

Los resultados obtenidos de las variables evaluadas; esperanza de vida de nacimiento, promedio de vida, tasa reproductiva bruta, tasa reproductiva neta, tiempo generacional y tasa de crecimiento poblacional para la concentración de 0.075mg/l de zinc difieren en un 15% con respecto del grupo testigo. Sin embargo para el caso de la concentración de 0.15 mg/l se observaron para la esperanza de vida de nacimiento y el promedio de vida valores muy semejantes con respecto del grupo testigo, en tanto que para la concentración más alta de 0.3 mg/l los valores de las dos variables ya mencionadas se vieron reducidas en un 60% (tabla 2).

Tabla 2. Variables de tabla de vida demográfica: esperanza de vida de nacimiento en días, promedio de vida en días, tasa reproductiva bruta (número de descendientes por hembra por duración de vida), tasa reproductiva neta (número de descendientes por hembra por duración de vida), tiempo generacional en días y tasa de crecimiento poblacional por día de *H. incongruens* expuesto a diferentes concentraciones de zinc los valores muestran promedio \pm error estándar basado en tres replicas.

Tratamiento	Esperanza de vida de nacimiento	Promedio de vida	Tasa reproductiva bruta	Tasa reproductiva neta	Tiempo generacional	Tasa de crecimiento poblacional.
Testigo	15.500 \pm 1.666	16.000 \pm 1.666	5.966 \pm 0.980	0.633 \pm 0.067	25.267 \pm 1.822	-0.019 \pm 0.004
0.075 mg/l	12.88 \pm 0.45	13.38 \pm 0.45	0.16 \pm 0.16	0.016 \pm 0.001	8.33 \pm 1.33	-0.040 \pm 0.004
0.15 mg/l	14.11 \pm 0.26	14.61 \pm 0.26	- -	- -	- -	- -
0.3 mg/l	6.47 \pm 1.63	6.98 \pm 1.63	- -	- -	- -	- -

Para el caso del mercurio, con respecto a las concentraciones de mercurio utilizadas (0.0012 mg/l, 0.0025 mg/l y 0.005mg/l) las variables de esperanza de

vida de nacimiento, promedio de vida, tasa reproductiva neta, los valores fueron altos con respecto al grupo testigo excepto en la tasa reproductiva bruta en donde los valores fueron decreciendo conforme aumentó la concentración siendo estos de 3.51 ± 1.3 , 2.78 ± 0.37 y 1.08 ± 0.19 respectivamente, el tiempo generacional en la concentración más baja y en la más alta los valores fueron semejantes a los obtenidos en el grupo control. Finalmente la tasa de crecimiento poblacional en la concentración de 0.0025mg/l se obtuvo un valor positivo como podemos ver en la siguiente tabla.

Tabla 3. Variables de tabla de vida demográfica: esperanza de vida de nacimiento en días, promedio de vida en días, tasa reproductiva bruta (número de descendientes por hembra por duración de vida), tasa reproductiva neta (número de descendientes por hembra por duración de vida), tiempo generacional en días y tasa de crecimiento poblacional por día de *H. incongruens* expuesto a 0.0012mg/l , 0.0025mg/l , 0.005mg/l de mercurio con respecto al grupo testigo, los valores muestran promedio y error estándar basado en tres replicas.

Tratamiento	Esperanza de vida de nacimiento	Promedio de vida	Tasa reproductiva bruta	Tasa reproductiva neta	Tiempo generacional	Tasa de crecimiento poblacional.
Testigo	15.500 ± 1.666	16.000 ± 1.666	5.966 ± 2.980	0.633 ± 0.067	25.267 ± 1.822	-0.019 ± 0.004
	18.225 ± 4.798	18.700 ± 4.784	3.515 ± 1.315	0.575 ± 0.175	36.377 ± 1.752	-0.0161 ± 0.008
0.0012mg/l	30.896 ± 4.83	31.350 ± 4.82	2.786 ± 0.37	1.133 ± 0.19	38.027 ± 1.61	0.002 ± 0.004
	33.0817 ± 2.503	33.5667 ± 2.498	1.0800 ± 0.199	0.550 ± 0.100	36.930 ± 1.132	-0.016 ± 0.004

Para el caso del Zinc solo se evaluaron los factores Esperanza de vida de nacimiento y Promedio de vida encontrando para ambos casos valores significativos ($p < 0.01$) (Tabla 4).

Para el caso del mercurio en el análisis de varianza por medio de ANOVA de dos factores los resultados en cada una de las variables evaluadas se obtuvieron valores significativos, excepto para la tasa reproductiva bruta cuyo valor fue no significativo (Tabla 5)

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza del factor esperanza de vida de nacimiento de *H. incongruens* bajo las diferentes concentraciones de cloruro de zinc (gl= grados de libertad, sc= suma de cuadrados, pc= promedio de suma de cuadrado y F= F- relación, **= $p < 0.01$)

Variación	Gl	SC	PC	F
Esperanza de vida de nacimiento	3	143.396	47.80	11.11**
Error	8	34.409	4.30	
Promedio de vida	3	143.107	47.70	11.12**
Error	8	34.305	4.29	

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza del factor esperanza de vida de nacimiento de *H. incongruens* bajo diferentes concentraciones de cloruro de Hg (gl = grados de libertad, sc= suma de cuadrados, pc= promedio de suma de cuadrado y F = F- relación, *= $p < 0.05$, *** = $p < 0.001$, ns = $p > 0.05$).

Variación	Gl	SC	PC	F
E0	3	690.86	230.29	5.47 *
Error	8	336.79	42.10	
Promedio de vida	3	702.74	234.25	5.66 *
Error	8	331.79	41.40	

Reproducción bruta	3	37.03	12.34	1.71ns
Error	8	57.85	7.23	
Reproducción neta	3	0.69	0.23	4.82*
Error	8	0.38	0.05	
Tiempo generacional.				
	3	319.84	106.61	17.26***
Error	8	49.42	0.05	

DISCUSION

Este trabajo es de gran importancia debido a que metales pesados zinc y mercurio, ejercen efectos negativos sobre *H. incongruens*; corroborando lo dicho por Depledge y Billinghamurst (1999) que el zinc es un elemento indispensable para el desarrollo de los organismos, en cantidades mínimas, pero relativamente tóxicos en concentraciones altas. Aquí podemos destacar que las concentraciones usadas durante el experimento, si afectaron la sobrevivencia, además de la reproducción y la esperanza de vida. Los efectos subletales en una gran variedad de organismos, conducen a cambios en su morfología o histología; fisiología; Bioquímica y Endocrinología, conducta y reproducción (Bryan, 1976). Por lo podríamos inferir que el efecto negativo en la reproducción de *H. incongruens* esta relacionado probablemente a la acumulación en áreas específicas en tejidos y células, tal como se menciona en el estudio realizado por De Schamphelaere et. al. (2000); encontrando que para *Daphnia magna* la reproducción se vió afectada excepto en la concentración de zinc más baja, la cual fue muy similar a la del grupo control; comportamiento muy similar al de nuestro trabajo.

Los estudios de concentración letal media, son necesarios para determinar la concentración en la cual muere el 50% de los individuos iniciales (Snell y Janssen, 1995). Los resultados de esta prueba son variables dependiendo de la especie de la que se trate o del tóxico que se utilice y es muy importante realizarla pues es muy posible que una sustancia tóxica pueda ser letal sólo cuando la dosis es muy alta, pero produzca efectos malignos a concentraciones relativamente bajas (Duffus, 1983). La concentración letal media para *Heterocypris incongruens* con mercurio fue baja (0.81mg/l) en comparación con la del zinc (2.69 mg/l) pero alta comparada con el trabajo previamente realizado con mercurio Sarma y col. (2000), quienes reportaron que la concentración letal media para el rotífero *Brachionus calyciflorus* varió entre 0.1 a 0.62 mg/l. por su parte Fargosova (1994) determinó para el cladóceros *Daphnia magna* una CL₅₀ de 0.04 - 0.08mg/l.

Sin embargo los metales pesados aun cuando son tóxicos no necesariamente pueden afectar de una manera significativa puesto que a lo largo del tiempo se precipitan y se acumulan en los sedimentos en mayor concentración que en la columna de agua lo cual significa que la comunidad asociada al sedimento esta expuesta frecuentemente a toxicidades agudas con efectos catastróficos para las poblaciones.

También existe el impacto de la concentración de alimento sobre la toxicidad de los metales pesados y otras toxinas sobre la CL_{50} . Generalmente al aumentar la concentración del alimento existe una disminución en la toxicidad de cualquier xenobiótico (Sarma et al., 2000). Aunque en este trabajo no fue evaluado el impacto de la concentración de alimento en la toxicidad aguda de *H. incongruens* la densidad de alga indica un posible efecto atenuante sobre la toxicidad de mercurio.

Normalmente cuando no existen datos o evaluaciones sobre toxicidad crónica, factores de 0.1, 0.01 o 0.001 de CL_{50} pueden considerarse como concentraciones de seguridad. Sin embargo la concentración de seguridad derivada del uso de estos factores no garantiza la sobrevivencia o la reproducción de ciertos grupos de organismos acuáticos; a largo plazo entonces los ecotoxicólogos recomiendan generar datos sobre varios grupos de organismos pero usando concentraciones subletales (Sarma, 2000). En este trabajo para el mercurio se usaron tres niveles (0.0012, 0.0025, 0.005mg/l) lo que aproximadamente representa del 0.01 al 0.002 de CL_{50} . Sin embargo la sobrevivencia tanto como la reproducción de *H. incongruens* fue afectado negativamente con la concentración de mercurio tan baja como $1/400 \times CL_{50}$. Esta observación indica que el uso del factor de conversión para derivar la concentración de seguridad no es totalmente confiable entonces es necesario realizar experimentos con las concentraciones subletales.

Para realizar experimentos de tabla de vida para el zinc se usaron tres niveles subletales (0.075, 0.15, 0.3 mg/l) estos valores corresponden a $1/40$ a $1/10$ de la CL_{50} también la concentración más baja como 0.075 del zinc demostró una influencia negativa sobre la sobrevivencia y reproducción de *H. incongruens*.

Efecto del mercurio y zinc sobre componentes de tabla de vida demográfica.

Tóxicos tales como pesticidas y metales pesados pueden influir de manera diferente en las variables de tabla de vida. Por ejemplo; recientemente Ramírez y col. (2004) al evaluar el efecto del mercurio en la historia de vida de *Brachionus calyciflorus* el promedio de vida fue de 8 días para el grupo testigo pero con el aumento de la concentración del mercurio hasta 0.005 mg/l el promedio de vida fue reducido hasta el 50%, lo mismo ocurrió con la esperanza de vida de nacimiento. En el caso de *H. incongruens* el promedio de vida fue de 16 días y con las concentraciones utilizadas de zinc de 0.0075 hasta 0.3mg/l en donde hubo una reducción aproximadamente del 60% con respecto del grupo testigo. Sin embargo esto no coincide para el caso del mercurio habiendo utilizado 3 de las concentraciones del trabajo de Ramírez puesto que el promedio de vida incremento al ir en aumento las concentraciones.

Entre las diferentes variables de reproducción, la tasa de crecimiento poblacional (r) es la más importante, ya que esta es la sumatoria de todas las variables de la historia de vida de un organismo (Krebs, 1985). Generalmente cuando hay una alta concentración de tóxicos en el ambiente la tasa de crecimiento poblacional es negativa como es el caso del efecto de los metales pesados utilizadas en este trabajo en donde r fue negativa sin embargo bajo condiciones naturales, en donde la disponibilidad de alimento es baja y la mortalidad de los neonatos es alta r puede ser negativa en ausencia de algún agente tóxico (Forbes y Calow 1999). Esto último fue lo que probablemente ocurrió en este trabajo con el grupo control en donde r también fue negativa.

En organismos como ostrácodos y otras especies de zooplancton en donde hay reproducción iteropara la derivación del tiempo generacional puede ser complicada tomando en cuenta diferentes fases de reproducción. El tiempo generacional entre varias especies de crustáceos puede variar desde una semana hasta varios meses, sin embargo tanto en ostrácodos como en

cladóceros el tiempo generacional puede variar entre 5 y 35 días (Dumont y Negrea, 2002). En el caso de *H. incongruens* varió entre 8 y 25 días dependiendo de la concentración del metal pesado en el medio; por lo general el tiempo generacional decrece con el incremento de la concentración del tóxico en el ambiente como ocurrió en este trabajo con diferentes tratamientos de zinc, por otro lado el tiempo generacional puede aumentar cuando algún agente tóxico tiene un efecto negativo sobre la reproducción pero no en la sobrevivencia como se observó con las diferentes concentraciones de mercurio.

CONCLUSIONES

Aunque existen diversas pruebas biológicas desde las bacterias hasta los vertebrados como los peces, la mayoría de ellas toman en cuenta evaluaciones de toxicidad aguda, en donde se conocen las concentraciones que no afectan a ciertos organismos a corto plazo, pero que sin embargo a largo plazo pueden afectar la densidad y el patrón de crecimiento de los organismos.

Así mismo es urgente determinar el impacto de contaminantes principalmente metales pesados que están afectando actualmente a varios cuerpos de agua en México.

Aunque en el presente trabajo no se evaluó como tal, la concentración de alimento es importante que esta se tome en cuenta en trabajos posteriores puesto que a bajas densidades de alimento los organismos invierten más energía en la reproducción, esto se observó particularmente en el caso del mercurio.

Aunque el zinc es un elemento esencial para la vida de los organismos, en concentraciones elevadas provocó efectos negativos en *H. incongruens* mermando así la sobrevivencia y la reproducción de los organismos y sobre todo para las concentraciones más altas de 0.15mg/l y 0.3mg/l.

Se recomienda seguir haciendo estudios con *H. incongruens* debido a que es una especie béntica y por consiguiente es ahí en donde se encuentran gran cantidad de partículas de metales pesados adheridas a los sedimentos, lo cual habla de esta especie como un buen organismo para pruebas de bioensayo y un buen papel como indicador.

REFERENCIAS

Anonymous, 1985. Methods of Measuring the Acute Toxicity of Effluents to freshwater and Marine Organisms U.S. Environment Protection Agency EPA/600/4-85/013, Washington, DC.

Barnes, 1996. Zoología de los Invertebrados. Ed. Mc Graw- Hill-Interamericana, 6a ed., México.

Brand, A., 2003. Toxicidad aguda y crónica del cadmio y mercurio en el cladócero "Alona rectangular". Tesis Lic. Biología. Facultad Iztacala, UNAM, México D.F 48pp.

Chial, B., Persoone, G. Cyst-based toxicity test XV – application of ostracod solid-phase microbiotest for toxicity monitoring of contaminated soils. Environmental Toxicology, 2003, vol. 18 No. 5, pp. 347-352.

Conde-Porcuna, J.M. et al.2004. El zooplancton como integrante en la estructura trófica de los sistemas lénticos. Instituto del agua Universidad de Granada. Granada, España.

Connel. 1984. Chemistry and Ecotoxicology of pollution. Interscience Publications New York. 444 pp.

De Schampelaere, K.A.C., Canli, M., Van Lierde, V., Forrez, I., Vanhaecke, F., R. Janssen., 2004. Reproductive toxicity of dietary zinc to *Daphnia magna* Aquatic Toxicology 70, 233-244.

Depledge, M.H., Billinghamurst, Z., 1999. Ecological significance of endocrine disruption in marine invertebrates. Mar. Pollut. Bull. 39, 32- 38.

Duffus, 1983. Toxicología ambiental. Ed. Omega. Barcelona.

Dumont, H. y S. Negrea 2002. Introduction to the Class Branchiopoda. Guides to the Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World, Backhuys Publishers, the Netherlands.

Finney, D.J. 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, 3rd ed., London, 333 pp.

Forbes, V.E. y Calow, P. 1999. Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology *Environ Toxicol Chem* 18: 1544-1556

Gama, F.J. 2001. Population growth of *Euchlanis dilatata* (rotifera): combined effects of methyl parathion food (*Chlorella vulgaris*). *J. Environ. Sci. Health*, B36: 43-54

Krebs, C. J. 1985 Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance. 3rd ed. Harper & Row, New Cork.

Margaleff, R. 1981. Limnología. Ed. Omega . Barcelona.

Mauri, M., Baraldi, E., Simonini R., 2004. Effects of zinc exposure on the polychaete *Dinophilus gyrociliatus*: a life-table response experiment. *Aquatic Toxicology*. 65, 93-100.

Méndez, L; Salas-Flores, LM; Areola-Lizarraga, A; Alvarez-Castañeda, ST; Acosta, B 2002. Heavy Metals in Clams from Guaymas Bay, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 68: 217-223.

Moss. 1980. Ecology of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Páez-Osuna F. 1996. Efectos de los metales. In Botello Av. Rojas Galaviz, JL, Benitez JA and Zarate – Lomeli D (eds) Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. Universidad Autónoma de Campeche EPOMEX, México.

Ramírez, T., Sarma, S.S.S y Nandini, S. 2003. Effects of Mercury on the Life Table Demography of the Rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Ecotoxicology*, 13, 535-544.

Reynoldson, T. y Zarull, M.1989. The biological assessment of contaminated sediments _ The Detroit river example. *Hydrobiologia* 188/189: 463 476.

Ruiz-Fernández, A.C., Hillaire-Marcel, C., Paez-Osuna, F., Ghaleb, B., Soto-Jiménez, M. 2003. Historical trends of metal pollution recorded in the sediments of the Culiacan River Estuary, Northwestern Mexico. *Applied Geochemistry* 18: 577-588.

Sarma, S.S.S. 2000 The use of rotifers for ecotoxicological studies in Mexico. In: E. Ríos-Jara et al. (eds). *Estudios sobre plancton en México y el Caribe*. Sociedad Mexicana Planctología / Universidad de Guadalajara (México): 8-11.

Sarma, S.S.S., Ramírez-Pérez, T. y Nandini, S. 2000. Comparison of the sensitivity of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera) to selected heavy metals under low and high food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64: 735-739.

Sarma, S.S.S., Nandini S & JL Gama-Flores 2001. Effect of methyl parathion on the population growth of the rotifer *Brachionus patulus* (O.F. Muller) under different algal food (*Chlorella vulgaris*) densities. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 48: 190-195.

Scheiner, B.J., Doyle, F.M. y Kawatra, S.K. (Eds.). 1989. *Biotechnology in Minerals and Metal processing*. Society of Mining Engineers Inc., Littleton (CO), 209 pp.

Snell, T. W. y C. R. Janssen, 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia* 313/314: 231-247.

Suárez, V. 2005. "Evaluación del estrés agudo y crónico del cadmio (CdCl_2) y cobre (CuSO_4) en el ostrácodo (*Heterocypris incongruens*) mediante las respuestas de tablas de vida demográficas". Tesis Lic. Biología. Facultad Iztacala, UNAM, México D.F 38 pp.

Sunkad, B. N. y Patil, H.S. 2004. Water quality assessment of Fort lake of Belgaum (Karnataka) with special reference to zooplankton. *Journal of Environmental Biology* 25, 1, 99-102.

Spencer, M. y Blaustein, L. 2000 Risk of predation and hatching of resting eggs in the ostracod *Heterocypris incongruens*. *Journal of Crustacean Biology*: Vol. 21, No. 3, pp575-581.

ANEXO

MEDIO DE CULTIVO BOLD BASAL (Gama, 2001)

1.- Nitrato de sodio (NaNO_3)	250 g/l
2.-Sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	75 g/l
3.-Fosfato de potasio bibásico (K_2HPO_4)	75 g/l
4.-Fosfato de potasio monobásico (KHPO_4)	75 g/l
5.-Cloruro de sodio (NaCl)	25 g/l
6.-EDTA ($\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	50 g + 31 g KOH/l
7.-Sulfato de fierro ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	4.98 g/l + 1ml H_2SO_4
8.-Ácido bórico (H_3BO_3)	11.42 g/l
9.-Cloruro de calcio (CaCl_2)	25 g/l
10.-Elementos traza	
➤ Cloruro de manganeso ($\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.44 g/l
➤ Trióxido de molibdeno (MnO_3)	0.71 g/l
➤ Sulfato de cobre(CuSO_4)	1.75 g/l
➤ Nitrato de cobalto ($\text{CO}(\text{NO}_3)_2$)	0.49 g/l
➤ Sulfato de zinc (ZnSO_4)	8.82 g/l

Para preparar 20 L de medio EPA (Anonymous, 1985).

1.9 g. de Bicarbonato de sodio (NaHCO_3)

1.2 g. de Sulfato de calcio (CaSO_4)

1.2 g. de Sulfato de manganeso (MgSO_4)

0.004 g. de Cloruro de potasio (KCl)