



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

Superiores

Facultad de Estudios

IZTACALA

**EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA
POR METALES PESADOS EN EL PEZ
Poeciliopsis gracilis (Heckel, 1848).**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
RICARDO ROMAN TAPIA SALGADO

DIRECTORA DE TESIS:
M. en C. Teresa Ramírez Pérez



Los Reyes Iztacala, Edo. de México 2009



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que intervinieron en la realización de este proyecto principalmente a la M. en C. Teresa Ramírez Pérez por dirigir este trabajo, por su apoyo y confianza en la fase experimental, por sus aprendizajes transmitidos y por su amistad y consejos tanto en lo académico como en lo personal.

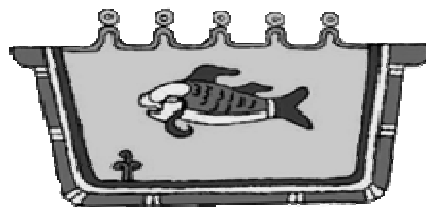
Al M. en C. Mario Alfredo Fernández a quien considero una gran persona, por haberme brindado su invaluable amistad, consejos y apoyo para realizar este trabajo así como otros valores profesionales importantes en el desarrollo de cualquier universitario.

A quienes fungieron como sinodales de esta tesis:

Al Dr. y la Dra. Sarma, por haber encaminado este trabajo y por su importante orientación y enseñanza en los tópicos de Toxicidad.

A la M. en C. Alba Márquez E. de quien recibí apoyo y confianza necesario para cualquier trabajo, además de la ayuda recibida para el reconocimiento de la especie *Poeciliopsis gracilis*.

Agradezco al Laboratorio de producción acuícola en donde realice satisfactoriamente gran parte de este trabajo, así como a los colaboradores del mismo, quienes me brindaron siempre una desinteresada e importante ayuda.



Acuario Juan Luis Cifuentes Lemus

Y a la honorable institución en donde me logre desarrollar con todo lo que conlleva ser Universitario: UNAM Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

Dedicatoria

A mi Amada familia,

Por ellos, en quienes he encontrado a lo largo de los años el principal pilar del que se sostiene mi esencia como hombre, lo cual me hace un orgulloso y feliz integrante de tan noble y ejemplar círculo. Gracias por creer en mí.

A mi Madre:

Por quien en su altruista y vital función, pude encontrar el verdadero motor de las cosas, llamado este "amor". Quisiera retribuirte de alguna forma que, al yo realizar cosas que te hicieran sentir orgullosa como madre, encontraras el inliquidable pago de todo cuanto haz hecho por mi, *TE AMO MAMÁ*

A mi Padre:

Por aquel importante hombre en mi vida, de quien tengo el honor de seguir sus pasos y aun mejor sus ejemplos. Tu inquebrantable aplomo, la ejemplar Ataraxia y tu discreto pero gran amor nos han sabido llevar a un feliz desarrollo. Siempre te recordare como algo necesario para mi esencia. *Te Amo Papá*

A mis amados hermanos:

Israel: Gracias por los consejos dados a través del tiempo, por las experiencias vividas, por el apoyo a mi persona en muchos aspectos y por lo que nos falta vivir. Deseo que Dios bendiga tu matrimonio y que se sigan haciendo realidad tus sueños.

Monse: Mi pequeña gran hada, siempre vivirá en mi memoria el recuerdo de todo lo que hemos hecho juntos, gracias por tu compañía incondicional en todos los momentos, Deseo que sigas triunfando en la vida, sin perder nunca la fe, gracias por alegrar mi vida con Anuar, el varoncito a quien brindo todo mi amor y mi apoyo.

A Emmanuel. Mi hermano Con quien he tenido la fortuna de contar, en muchos y distintos momentos de mi vida, todo el apoyo siempre reciproco, es lo que nos ha llevado a ser quienes somos. Deseo que Dios nos mantenga juntos y que el tiempo cumpla nuestras promesas.

A mis Tíos y Abuelos

Para aquellos quienes siempre desearon verme feliz y en uno de estos escalones de la vida, inolvidables serán cada una de sus palabras y su apoyo.

Tías: Lola, Lupe, Lupita. Tíos: † Luis, † Fernando, David, Marcos

Abuelitas: Inés y † Carlotita. Abuelitos: † David y Ángel.

A Abigail

A mi linda prometida con quien he tenido la suerte de compartir días inolvidables y caminar un mismo camino. El cual es sencillamente el deseo que todo hombre busca. Deseo con apoyo en la fe, que Dios dirija el bello suceso de nuestra vida juntos y nuestro crecimiento hacia la felicidad. Gracias por el apoyo a mi corazón y por las incesantes ganas de estar juntos *Te Amo mi Nena*

A mis amigos: De quien recibí un apoyo intenso y momentos que quedaran guardados en mi mente como los mejores de mi vida. Hago una lista atreviéndome a no considerar por olvido a personas igualmente importantes: Juan de Dios, Omar (Mi chavo), Betza, Abby, Idalia, Lacho, Caro, Milton, Cony, Abraham, Andy, Luis, Viris, Denis, Cesar, Pau, Deya, Rafael, Shara, Monse, Toto, Geles, Ricardo Pame, Paulina, Gerry, (Micke`s) Oscar, Hugo, Jorge, Joel.

Índice.

1. Resumen	6
2. Introducción	8
2.1 Cromo	8
2.2 Zinc	14
2.3 Cadmio	16
2.4 <i>Poeciliopsis gracilis</i>	19
3. Antecedentes	22
4. Justificación	25
5. Objetivos	27
6. Material y Métodos	28
6.1 Mantenimiento de los organismos de prueba	28
6.2 Características de los organismos de prueba	28
6.3 Pruebas de toxicidad	29
6.4 Descripción del método de ensayo	20
7. Resultados	32

7.1 Toxicidad aguda	32
7.2 Cromo.....	33
7.3 Cadmio	34
7.4 Zinc	35
7.5 Sensibilidad de los estadios entre metales.....	36
8. Discusión	38
8.1 Cadmio	38
8.2 Cromo	40
8.3 Zinc	42
9. Conclusiones	49
10. Anexo.....	50
11. Glosario	55
12. Bibliografía citada	57

1. Resumen

La ecotoxicología tiene como objetivo valorar el riesgo ecológico frente a sustancias potencialmente tóxicas, tanto en el ambiente acuático como el terrestre y proveer información suficiente para elaborar estrategias, para la protección de ecosistemas.

En la evaluación del efecto de metales pesados, se utilizan animales de laboratorio, tejidos o embriones (*in vitro*), ya sea en bioensayos con exposiciones agudas o crónicas. En el primer caso, se espera un efecto adverso y discernible en un tiempo corto, y en el segundo caso se miden respuestas como sobrevivencia, crecimiento, reproducción, la concentración tóxica tolerable etc. en un tiempo más prolongado. La importancia de este tipo de estudios es conocer la sensibilidad de un organismo en un estadio de su desarrollo a un tóxico determinado y así prevenir riesgos ecológicos y disminuir la pérdida de diversidad. Por este motivo el objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad aguda del cromo, cadmio y zinc sobre la especie *Poeciliopsis gracilis* en tres estadios de vida. Para las pruebas de toxicidad aguda se utilizaron los métodos de prueba estándares y oficiales de la ASTM (1991) "American Society for Testing and Materials". Para calcular la CL_{50} se utilizó el método Probit (Finney 1971). Los resultados mostraron que los tres metales pesados evaluados tuvieron diferente grado de toxicidad entre los estadios del pez *Poeciliopsis gracilis*, la mayor toxicidad la presenta el cadmio, seguido por el cromo y por último el zinc. Ya que para el cadmio se encontraron valores CL_{50} 96 hrs. desde 1.28 hasta 3.47 mg/L observando la mayor sensibilidad en crías y la mayor tolerancia en juveniles. Para el cromo se obtuvieron valores desde 6.1 hasta 47.42 mg/L mostrando que la mayor sensibilidad la presentan las crías y la mayor tolerancia los juveniles y para el zinc, se encuentra la CL_{50} 96 hrs. con

valores desde 29.64 hasta 36.95 mg/L, siendo los juveniles los más sensibles y las crías las más tolerantes. Con este estudio podemos observar que las pruebas de toxicidad aguda son herramientas necesarias y confiables, ya que al evaluar la toxicidad de los metales pesados aquí utilizados, se pudo corroborar que en el pez *P. gracilis* existe una sensibilidad diferenciada de acuerdo al estadio de vida.

2. Introducción.

Aunque la contaminación y la intoxicación de organismos por metales pesados tienen sus inicios en la prehistoria, cabe destacar que no es sino hasta el siglo XIX que este asunto empieza a despertar preocupaciones. Así como en México y otros países, el desarrollo de la industria, la urbanización, la deforestación y el rápido crecimiento de las poblaciones humanas traen como consecuencia una alta demanda de productos de la industria y de la agricultura, lo cual incrementa la contaminación de los ecosistemas incluyendo los acuáticos (Páez, 2005). Es por ello que un contaminante es definido como una sustancia que esta presente en un ambiente, debido a la liberación de una fuente antropogénica y/ó de una natural y se cree que es potencialmente peligrosa (Suter *et al.* 2000).

La Ecotoxicología tiene como objetivo valorar el riesgo ecológico frente a sustancias potencialmente tóxicas en el ambiente acuático y provee información suficiente para elaborar estrategias de gestión para proteger ecosistemas. Esta área también es conocida como toxicología del medio ambiente o toxicología ambiental y estudia la fuente de productos tóxicos, su movilidad, persistencia en el ambiente y en cadenas tróficas, su transformación bajo condiciones ambientales y sus efectos sobre la dinámica de poblaciones de las especies afectadas (Iannacone *et al.* 2007). La Ecotoxicología también estudia los efectos y las reacciones fisiológicas, que algunas sustancias tienen sobre los organismos, ya que provocan trastornos a nivel fisiológico, morfológico, histológico, bioquímico (química sanguínea y actividades enzimáticas), endocrinológico y etológico (Bryan, 1976); así como la actividad termorreguladora de organismos acuáticos, el comportamiento en el caso de los peces cuando son expuestos a ellas, se refleja en cambios de locomoción, crecimiento, desarrollo, capacidad de

nado y respiración, comportamiento reproductivo, circulación, reducción de pH y nivel de oxígeno en la sangre (Hirt y Domitrovic, 2001).

Para la evaluación del efecto de metales pesados sobre organismos acuáticos, se han usado frecuentemente dos tipos de ensayos, los cuales son los de exposición aguda y los de exposición crónica. Cualquier estudio de toxicidad conlleva la exposición de animales de laboratorio (*in vivo*) o líneas animales, tejidos o embriones (*in vitro*), a aquellas sustancias tóxicas. La toxicidad aguda es la inducción y/o exposición de un organismo a una sustancia tóxica esperando un efecto adverso y discernible en un tiempo corto; en esta, se busca encontrar la concentración letal media (CL_{50}), es decir, la concentración que causa la muerte del 50% de los organismos de un lote sometido a ensayo, durante un período de exposición continuo el cual debe ser indicado. Las pruebas de toxicidad acuáticas utilizan tanto rotíferos, crustáceos (cladóceros) y peces, estas son necesarias para evaluar la presencia y los efectos de sustancias tóxicas en los organismos (Sarma *et al.* 2006).

Desde una perspectiva ecotoxicológica el hecho de que un contaminante pueda matar al 50% de los individuos de una población, tiene su grado de importancia, pero si ese contaminante retarda el desarrollo o madurez de un número importante de individuos, pueden presentarse situaciones y alteraciones ecológicas graves. De la misma manera, si un contaminante modifica las condiciones del medio en que habitan los organismos, las consecuencias ecológicas serán considerables (Rand, 1995).

En el desarrollo de recientes ensayos de toxicología, se hace uso de peces, ya que los efectos adversos se evalúan y cuantifican, arrojando con esto resultados útiles de dosis-respuesta. Fueron inicialmente desarrollados

para su uso en estudios de ecotoxicología, pero la sencillez y economía de su aplicación, junto a la gran variedad de herramientas genéticas recientemente desarrolladas, ha hecho que rápidamente se extiendan a otras áreas de la toxicología. En general, se determina la mínima concentración de la sustancia que produce efectos observables. El uso de peces para estos tipos de análisis garantiza un sistema cómodo y rápido, en comparación con otros ensayos más laboriosos y por tanto más tardados (Suter *et al.* 2000; Ramírez *et al.* 2008).

Entre los contaminantes tóxicos, están los metales pesados, que se encuentran de manera natural en la biosfera y por lo común, en bajas concentraciones y al ser componentes naturales no pueden ser degradados o destruidos, de tal manera que no representan un factor de toxicidad para los organismos vivos. Sin embargo, en ciertas áreas como algunos yacimientos minerales o en zonas con una elevada actividad industrial, las concentraciones de metales pesados pueden llegar a ser elevadas (Páez, 2005).

La introducción de los metales a los cuerpos de agua, se da principalmente por que son vertidos como productos de desecho a los afluentes, originando efectos adversos para las comunidades biológicas. Dichos contaminantes, pueden acumularse y alcanzar niveles tóxicos. En un grado pequeño se incorporan a los organismos, vía alimento, agua potable y aire; como elementos traza. Algunos iones metálicos (ej. cobre, magnesio, calcio, zinc, entre otros) son esenciales para mantener el metabolismo del cuerpo humano. (Ramírez-Romero 2005; Ramírez, 2005).

Los metales pesados, son aquellos elementos cuya densidad es mayor a 5 g/ml y para la mayoría de los organismos el exceso a la exposición de estos,

es extremadamente tóxica, los demás metales, que tienen una densidad inferior a 5, se les llama metales ligeros. En general la expresión "metales pesados" se usa cuando hay una connotación de toxicidad, por sus efectos tóxicos y porque son fácilmente medibles. Los metales pesados más comunes son: plomo, cadmio, mercurio, arsénico, bario, zinc, cobre, hierro y manganeso.

El término "metales pesados" es ampliamente usado por científicos y su definición es compleja, aunque algunos metales son necesarios para los seres vivos como el Ca, Mg, Cu y Zn, pueden llegar a ser tóxicos, si rebasan ciertas concentraciones. Generalmente se encuentran en concentraciones muy bajas, pero la actividad humana ha aumentado estas concentraciones por distintas actividades, como son, residuos mineros, extracción de petróleo y gas, vertidos industriales; como pesticidas, pinturas, textiles, fertilizantes, medicamentos, residuos agrícolas etc. concentrándose así en aguas fluviales, océanos y otros cuerpos acuáticos (Cervantes-Moreno, 1999; INE, 2008).

Desde el punto de vista biológico los metales pueden dividirse en los siguientes cuatro grupos:

- Metales esenciales para los procesos biológicos, como el calcio, magnesio, cobre, zinc y cromo, los cuales se conocen como microelementos.
- Metales probablemente insertos en los sistemas vivientes, aluminio y circonio.
- Metales poco tóxicos para algunos procesos de la vida, como el arsénico.
- Metales tóxicos como el cadmio, mercurio y plomo.

2.1 Cromo

El cromo con número atómico 24, masa atómica 51.96 y densidad 6.92 g/cm^3 es duro e inoxidable y es uno de los siete elementos más abundantes en la tierra, su toxicidad está en función de su estado de oxidación, la forma trivalente y sus sales son usualmente la forma más estable. Las sales de la forma hexavalente son las menos estables y más reactivas biológicamente. El Cromo (III) rara vez se presenta en agua potable; sin embargo, el cromo (VI) en el agua clorada o aireada, se presenta como la forma predominante, en peces provoca problemas respiratorios y decoloración en sus tejidos, además de causar alteraciones histológicas, se absorbe fácilmente a través del tracto gastrointestinal, pudiendo atravesar las membranas celulares por acción del sistema transportador del sulfato, los cromatos Cr (VI), se les reconoce ampliamente como sustancias tóxicas y se ha establecido que son mutágenos y carcinógenos, además de biomagnificarse en los organismos; se ha informado de estos efectos en diversos sistemas biológicos. El Dicromato de Potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) se utiliza principalmente en metalurgia, para aportar resistencia a la corrosión y un acabado brillante en aleaciones, en procesos de cromado (depositar una capa protectora mediante electro deposición) también es utilizado en el anodizado del aluminio, en pinturas cromadas como tratamiento antioxidante, sus cromatos y óxidos se emplean en colorantes y pinturas en general, sus sales se emplean como fijadores, además de sus variados colores. También es un reactivo químico, que se emplea en la limpieza de material de vidrio de laboratorio y en análisis volumétricos, como agente valorante, es común el uso del cromo y de alguno de sus óxidos como catalizadores, por ejemplo, en la síntesis de amoníaco (NH_3), el mineral cromita se emplea en moldes para la fabricación de

ladrillos, en el curtido del cuero es frecuente emplear el denominado "curtido al cromo", en el que se emplea hidroxisulfato de cromo, mas sin embargo, el cromo pertenece al grupo de los oligoelementos y es indispensable para el organismo (Páez, 2005; *ATSDR*, 1999).

2.2 Zinc

El Zinc con número atómico 30, peso atómico 65.38 y densidad 7.14 g/cm^3 , es un elemento traza esencial, es una sustancia muy común que ocurre naturalmente en el aire, agua y suelo, pero las concentraciones están aumentando por diversas causas, tales como, desechos de las actividades humanas. La mayoría de este metal es adicionado durante actividades industriales, como es la minería, la combustión de carbón y residuos, así como en el proceso del acero. La principal aplicación del Zinc es el galvanizado del acero para protegerlo de la corrosión, la fabricación de Baterías de Zn-AgO usadas para computadoras portátiles, piezas de fundición inyectada en la industria automotriz, metalurgia de metales preciosos y eliminación de la plata presente en el plomo, el Cloruro de zinc (ZnCl_2) se usa para preservar la madera y como fluido soldador. La producción mundial de Zinc está todavía creciendo, significando esto que más y más zinc termina en el ambiente, ocupando el lugar 24 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre, muchos alimentos e incluso el agua potable contienen ciertas concentraciones de zinc, la cual puede elevarse cuando es almacenada en tanques de metal. Algunos peces pueden acumular zinc en sus cuerpos, cuando viven en cursos de aguas contaminadas con este metal, al entrar en los cuerpos de los peces, este es capaz de biomagnificarse en la cadena alimenticia. Los efectos nocivos generalmente se empiezan a manifestar cuando la concentración del metal alcanza niveles de 10 a 15 veces más altos que la cantidad necesaria para mantener buena salud, si se ingieren grandes cantidades, durante un período más prolongado, puede ocurrir una disminución en los niveles de colesterol. El Zinc es un oligoelemento importante que se encuentra en segundo lugar después del [hierro](#), por su concentración en el organismo (Turk, 1993).

El Zinc juega un papel vital en numerosas funciones, forma parte del crecimiento celular, es partícipe en el funcionamiento de 70 enzimas, en docenas de reacciones enzimáticas, entre las cuales podemos nombrar, las del metabolismo de hidratos de carbono, grasas y proteínas, en la síntesis de la insulina, el ARN y el ADN; esta presente en todos los seres vivos, concentrándose en los órganos reproductores, en las glándulas endocrinas y sobre todo en la hipófisis, cumple también, funciones de aumento de inmunidad natural contra infecciones bacterianas, destruye elementos tóxicos como el Cadmio el cual es un metal parecido al estaño (Páez, 2005; ATSDR, 1999).

2.3 Cadmio

El cadmio con número atómico 48, peso atómico 112.40 y densidad 8.64 g/cm³, es un metal blanco, que de forma natural grandes cantidades de este son liberadas al ambiente, la mitad de este, es liberado en los ríos a través de la descomposición de rocas, la solubilidad del cadmio en agua aumenta en medios ácidos, en suelos ácidos puede lixiviarse y desplazarse hacia las aguas subterráneas, es liberado al aire a través de fuegos forestales y volcanes, el resto del Cadmio es liberado por las actividades humanas, como es la manufacturación de lámparas fluorescentes, minerales de fosfato, bioindustrias del estiércol, plástico, joyería, laminados al vapor, soldadura, así como en la industria automotriz, aproximadamente tres cuartas partes del cadmio producido, se emplea en la fabricación de [baterías](#), especialmente en las de níquel-cadmio. Una parte importante se emplea en [galvanoplastia](#) (como recubrimiento), algunas de sus sales se emplean como [pigmentos](#). Debido a las regulaciones ambientales, sólo una pequeña cantidad de Cadmio entra ahora en el agua a través del vertido de aguas residuales de casas o industrias. El cadmio es un [metal](#) pesado que produce efecto tóxico en los organismos vivos, aún en concentraciones muy pequeñas, esta clasificado como agente cancerígeno, puede inactivar y causar la desnaturalización de las proteínas en las células. Existe una interacción con el metabolismo del calcio, donde el cadmio (como ion tóxico) reemplaza al calcio y compite, teniendo como consecuencia la transformación de enzimas y proteínas, provocando daños en la membrana celular, por otro lado también hay interacción con el metabolismo del Zinc haciendo que pierda su función protectora. También se sabe que se integra a las células utilizando los mecanismos y sistemas de absorción y acumulación utilizados por los iones Mg y Mn. Todos los organismos terrestres como los acuáticos, bioacumulan

el cadmio, algunos órganos vitales son células blanco de la toxicidad del cadmio, otros tejidos también son dañados por exposición al cadmio (en animales o humanos) incluyendo el [hígado](#), el [sistema inmunológico](#), el [sistema nervioso](#) y la [sangre](#). Otra parte importante del efecto tóxico del Cadmio sobre la función celular, es su interacción con los grupos SH de proteínas y otras biomoléculas, efectos en la [reproducción](#) y el desarrollo han sido observados en animales expuestos al cadmio, pero no han sido reportados aún en seres humanos (Páez, 2005; ATSDR, 1999).

En México los metales pesados tales como el cromo, cadmio y zinc son de gran interés por el impacto que ocasionan, esto se da por sus efectos tóxicos en los organismos acuáticos. El metal más abundante es el zinc, seguido por el plomo y el cobre y se calcula que la contaminación mundial anual de los mismos, excede a la contaminación combinada por desechos radioactivos y orgánicos. Una vez que están en el medio los metales se dispersan asociándose con sedimentos, agua y biota, los metales pueden cambiar su disponibilidad, toxicidad, concentración y a veces presentan un sinergismo o antagonismo en la presencia de otros metales o contaminantes. La contaminación acuática por este tipo de metales también altera la composición de las poblaciones en los ecosistemas, ya que cada especie responde de diferente manera a las concentraciones de contaminantes, es decir que predominarían aquellas especies que son resistentes a los agentes tóxicos (Páez, 2005).

La respuesta de los individuos a los contaminantes, depende además de la concentración de estos, a factores como la especie, el comportamiento, la condición fisiológica y el tamaño del organismo, además de la interacción con factores ambientales como la temperatura y la composición química del agua. (Alcaraz y Espína, 1993).

Los iones metálicos son capturados predominantemente de acuerdo con las formas químicas disponibles en que se presentan; por ejemplo, los iones activos en las fases disueltas, se encuentran disponibles en el agua, siendo las superficies respiratorias (branquias y otras superficies del cuerpo) consecuentemente las más vulnerables, otra manera de introducirse al organismo es mediante la ingestión de materiales en suspensión y los alimentos mismos, también suelen entrar a la célula a través de los mismos sistemas de captación que utilizan los iones metálicos fisiológicamente importantes.

En animales acuáticos, el proceso de captación de estos iones metálicos se efectúa por tres procesos principales:

- A través de las superficies respiratorias, como las branquias
- Adsorción en las superficies corporales
- A través del aparato digestivo (Murugan *et al*, 2008).

La captación y toxicidad de los iones metálicos en estos organismos, son influidas por factores físicos, químicos y biológicos, así como el tiempo de exposición y la concentración de los metales (Cervantes y Moreno-Sánchez, 1999).

2.4 *Poeciliopsis gracilis*

El sujeto experimental de este estudio fue el pez *Poeciliopsis gracilis*, el cual recibe varios nombres comunes tales como: "Guatopote jarocho", "Guppy silvestre", "Charal", "Charal pinto" etcétera, su nombre común en inglés es "porthole livebearer". El nombre común "charal" puede inducir a confusiones, pues en México, se usa para multitud de especies pequeñas consideradas de poco valor comercial o acuariófilo. La CONABIO reporta en el 2008 a este pez como, "especie invasora de alto riesgo" y alta prioridad para México, según su estado de invasión esta especie está "Establecida en México" y las rutas de su introducción se dan por el comercio de organismos. *P. gracilis* se encuentra distribuido en América, en importantes sistemas acuáticos que va desde Honduras, Guatemala, Nicaragua y Panamá hasta distintos estados de México (Fig. 1) tales como, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Edo. de México, San Luís Potosí, Tabasco y Veracruz; actualmente la distribución de este poecílido, se extiende más hacia el norte en ambas vertientes, en el caso de la Atlántica, su presencia alcanza la cuenca del Pánuco y en la del Pacífico alcanza la cuenca del Balsas (Espinosa, 1993).

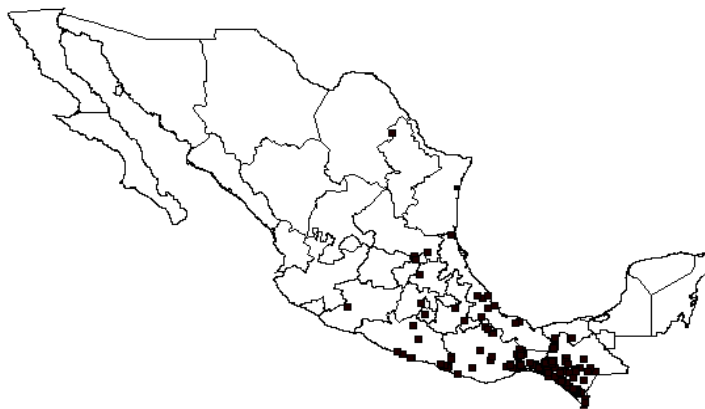


Figura 1. Distribución de *Poeciliopsis gracilis* en México

Este pez posee la forma típica de un poecílido, con la boca orientada hacia arriba, sin serie interna de dientes, presenta cuerpo alargado y en su parte superior de forma semiaplanada, aletas medianas, redondeadas y uniformes, presenta una coloración gris en cualquiera de sus tonalidades de cabeza a cola, posee 28 escamas, en una serie longitudinal, con 8 a 10 lunares o manchas negras o gris muy oscuro a lo largo de las líneas medias laterales, siendo más notorias para los machos, hay un marcado dimorfismo sexual, los machos son más pequeños que las hembras y poseen gonopodio, siendo este una modificación de la aleta anal, fungiendo como un órgano introminente, las hembras son más robustas y con el vientre redondeado (Álvarez del Villar, 1970).

La madurez sexual de esta especie la alcanzan después de los seis meses de vida, es una especie muy adaptable y tolera un rango muy amplio de temperatura, habita en aguas frías como en aguas templadas (15°C - 28°C). Se le considera un pez pacífico en acuarios comunitarios, se encuentra en pequeños grupos, en ocasiones ataca y llega hasta devorar a peces lentos y mas pequeños. Su alimentación es de tipo omnívoro, en su hábitat natural se alimenta de larvas de mosquitos, algas y casi cualquier cosa que se mueva y entre por su boca, en cautiverio acepta el alimento en escamas, artemia, granulados y vegetales suaves, su esperanza de vida oscila entre 3 y 4 años en buenas condiciones, su forma de gestación es vivípara (Álvarez del Villar, 1970).

La clasificación de este pez según Álvarez del Villar (1970):

- Phylum - *Vertebrata*
- Subphylum - *Gnathostomata*
- Clase - *Osteichthyies*
- Subclase - *Actinopterygii*
- Orden - *Cyprinodontiformes*
- Suborden - *Cyprinodontoidei*
- Familia - *Poeciliidae*
- Género - *Poeciliopsis*
- Especie - *gracilis* (Heckel, 1848).



Figura 2. *Poeciliopsis gracilis*

3. Antecedentes.

En cuanto a estudios utilizando metales pesados tenemos a:

Ashish y Banalata en el 2008 reportaron, para el pez *Channa punctatus*, una CL_{50} -96 hrs. de cromo. Los valores obtenidos fueron de 41.75 mg/L. Los resultados mostraron varias afecciones e histopatologías de órganos vitales, como branquias, riñón e hígado, además de alteraciones en patrones de comportamiento, afectando así a las poblaciones de peces.

Martins *et al.* en el 2007 buscaron la concentración letal media en el pez *Danio rerio*, utilizaron productos químicos nocivos para organismos acuáticos, se calculó para cada producto la CL_{50} 96 hrs., entre los que podemos destacar al cadmio y al zinc, obteniendo para estos valores de 2.2 y 23.1 mg/L respectivamente.

Vásquez *et al.* en 2005 realizaron un estudio para determinar la concentración letal media de cadmio en los peces cachamote (*Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus*) utilizando los estadios de alevines, obtuvieron una CL_{50} 96 hrs. de 22,96 mg/L de Cd.

Roex y colaboradores en el 2002 determinaron la CL_{50} de los compuestos narcóticos no polares, paration y 1,2,3 triclorobenceno, utilizando como organismo de prueba al pez cebra (*Danio rerio*). Los valores que encontraron para los dos compuestos, fueron de entre 1.85 a 2.43 mg/L., para ambos compuestos la CL_{50} fue más baja que la de los valores reportados en otros estudios.

Pérez-Legaspi en el 2001 realizó pruebas de toxicidad en tres especies del Filo Rotífera, comparando entre estas la susceptibilidad a 11 tóxicos diferentes, encontrándose entre estos los metales cadmio y cromo. Se reportaron valores de CL_{50} -24 hrs. para cadmio de 0.23 - 0.35 mg/L. y para el cromo fueron de 3.26 - 4.50 mg/L. Observando que en las especies utilizadas de rotíferos el cadmio presentó una mayor toxicidad que el cromo.

González y Aportela en el 2000 determinaron la toxicidad aguda del Dicromato de Potasio en larvas de *Artemia salina*, como método alternativo a la ecotoxicología, se expusieron nauplios de 24 horas a diferentes concentraciones del compuesto y se determinó la CL_{50} , la cual fue de 12.5 mg/L. Con los resultados obtenidos se corroboró la sensibilidad de los organismos frente al cromo, ya que este presenta un impacto potencial para el ambiente.

Buhl en 1997 encontró la CL_{50} 96 hrs. de cuatro metales pesados, utilizando como organismos de prueba las larvas y los juveniles de los peces *Ptychocheilus lucius*, *Gila elegans* y *Xyrauchen texanus*. Los rangos de la CL_{50} 96 hrs. fueron: mercurio 57-168 $\mu\text{g/L}$, cadmio 78-168 $\mu\text{g/L}$, cromo hexavalente 32,000-123,000 $\mu\text{g/L}$ y plomo >170,000 $\mu\text{g/L}$.

Hutchinson y colaboradores en 1994 realizaron pruebas de toxicidad con cadmio y cromo, en larvas del pez *Cyprinodon variegatus* y el copépodo *Tisbe battagliai*. Para las larvas de pez la CL_{50} -96 hrs. obtenida fue de 1.23 mg/L de cadmio y 31.6 mg/L de cromo, para los copéodos se obtuvieron valores de 0.34 mg/L de cadmio, 5.9 mg/L de cromo, pudiendose observar que las

larvas del pez son mas tolerantes que los copépodos y que la mayor toxicidad en ambas especies la presentó el cadmio seguido por el cromo.

Cusimano y Brakke en 1986 utilizaron al pez *Salmo gairdneri* para evaluar la toxicidad del cadmio, cobre y zinc. Los valores de CL_{50} fueron calculados en periodos de 96 y 168 horas. Los resultados de CL_{50} -96 hrs. en pruebas con pH ácido, fueron de 0.671 mg/L para zinc, 0.066 mg/L para cobre y 0.028 mg/L para cadmio, la mayor toxicidad la obtuvo el cadmio seguido por el cobre y al final el zinc. Los resultados de la CL_{50} -168 hrs. fueron similares a las 96 hrs.

Taylor y colaboradores en 1985 encontraron para el cromo una CL_{50} -96 hrs. de 47 ppm en las especies de peces *Limanda limanda* y *Chelon labrosus*.

Chapman en 1978 realizó un estudio de toxicidad utilizando como organismos de prueba a los peces *Oncorhynchus tshawytscha* y *Salmo gairdneri* en cuatro estadios juveniles, fueron expuestos ante los metales pesados cadmio y cobre. Reportaron valores de CL_{50} -96 h para zinc de 0.661 y 0.815 mg/L. para cadmio de 0.026 y 0.027 mg/L respectivamente. Se observó mayor sensibilidad en la especie *S. gairdneri*. Con estos resultados concluyó que los estadios tempranos fueron más tolerantes al cadmio y en menor medida al zinc en comparación con las formas juveniles.

4. Justificación.

El propósito de las pruebas de toxicidad es obtener información básica y útil para lograr la protección de los organismos acuáticos de una especie o comunidad determinada, así como identificar la sensibilidad de los organismos bajo ciertas condiciones, ante algún tóxico, proponiendo con ello, medidas para conservar la diversidad de los ecosistemas. Por ello, un bioensayo de toxicidad es en general, una prueba para establecer la naturaleza y la magnitud del efecto que producirá un agente dado a los organismos que son expuestos a él. Así mismo las pruebas de toxicidad aguda (CL_{50}) nos ayudan a entender de forma cuantitativa los efectos de un tóxico, en este caso el cromo, el cadmio y el zinc en el pez *Poeciliopsis gracilis*. A diferencia de los herbicidas, pesticidas y otros compuestos tóxicos que pueden degradarse biológicamente, los metales pesados no pueden ser eliminados y permanecen en los suelos o sedimentos, de donde se liberan lentamente al agua, los metales pesados cadmio, cromo y zinc fueron utilizados por ser principales contaminantes tóxicos en sistemas acuáticos mexicanos. En general la captación y toxicidad de los iones metálicos en los organismos son alteradas por factores físicos, químicos y biológicos, así como el tiempo de exposición y la concentración de los metales. Algunos metales pesados son esenciales y benéficos para la vida, pero la mayoría son altamente tóxicos, las concentraciones en las cuales los metales pueden ser considerados tóxicos, cambian de una especie a otra, incluso entre los diferentes estadios de la misma, un elemento en niveles bajos que es esencial para una especie, puede ser tóxico para otra.

Es importante el desarrollo de una serie de pruebas biológicas, para medir directamente los efectos tóxicos en los organismos y en los ecosistemas, en

los estudios de toxicidad es importante seleccionar las especies adecuadas. El uso de peces como modelo de experimentación, ha permitido descubrir que muchos procesos biológicos fundamentales son esencialmente iguales entre peces y mamíferos. En lo que se refiere a toxicidad, *Poeciliopsis gracilis* es una especie que presenta características de un organismo de prueba, dicha especie se hace presente en sistemas acuáticos mexicanos con amplia distribución, es una especie vivípara, de tamaño pequeño, fácil de criar y es sensible a cambios en su ambiente, este pez es utilizado como alimento vivo para otros organismos, principalmente para animales de ornato en la industria de la acuariofília. Los resultados obtenidos de los tóxicos probados en peces son potencialmente extrapolables al ser humano, como en el caso del pez *Danio rerio* (Nagel e Isberner, 1998). Con base en lo anterior, se realizaron pruebas de toxicidad aguda utilizando como organismo de prueba al pez *Poeciliopsis gracilis* en tres diferentes estadios de vida.

5. Objetivos.

General

Evaluar la toxicidad aguda del Cromo, Cadmio y Zinc sobre la especie *Poeciliopsis gracilis*.

Particular

Determinar la CL_{50} -96 hrs. del Cromo, Cadmio y Zinc sobre *Poeciliopsis gracilis* en tres diferentes estadios (crías, juveniles y adultos).

Conocer la sensibilidad entre los diferentes estadios de *P. gracilis* a los metales pesados evaluados.

6. Material y Método.

6.1 Mantenimiento y Condiciones en los organismos de prueba.

Los organismos que se utilizaron fueron de la especie *Poeciliopsis gracilis*, los cuales fueron adquiridos comercialmente con un distribuidor de peces de ornato. Inicialmente se mantuvieron en acuarios de 200 litros, las condiciones de mantenimiento fueron, fotoperíodo de 12 horas luz, aireación constante y temperatura de $23 \pm 1^\circ \text{C}$, de igual forma los parámetros fisicoquímicos del agua donde se realizaron las pruebas de toxicidad fueron: pH de 8.0, dureza 132 mg/L de CaCO_3 , considerando a esta agua como "moderadamente dura", para el oxígeno disuelto se obtuvo una concentración de 7.035 mg/L perteneciendo lo anterior a un agua "muy oxigenada", en la alcalinidad se obtuvo una concentración de 240 mg/L de CaCO_3 .

Los peces que se sometieron al ensayo fueron de un solo lote, y se seleccionaron solo los de la especie *P. gracilis* (ya que en cada lote se encuentran otras especies), siendo todos de un mismo estadio. Se alimentaron diariamente con alimento vivo (cladóceros) y alimento balanceado en hojuelas, se corroboró la especie utilizando las claves de Álvarez del Villar, 1970.

6.2 Características de los organismos de prueba.

Para las pruebas se seleccionaron tres estadios; crías, juveniles y adultos y en estos se utilizó la "longitud patrón" para realizar un promedio de las medidas por cada estadio, observando con lo anterior que *P. gracilis* nace con una talla promedio de 0.8 mm, el estadio de crías fue de aproximadamente 21 días de edad y una longitud promedio de 13.6 mm, en

donde aún no presentan un marcado dimorfismo sexual, la talla promedio de los juveniles fue de 27.2 mm, los cuales tenían 90 días aproximadamente de vida, en este estadio se empieza a observar el dimorfismo sexual siendo conspicuo el gonopodio en el macho, el estadio adultos tuvo un promedio de talla de 40.9 mm, en el cual se observó al macho con un gonopodio bien definido y a la hembra de mayor tamaño, así como un comportamiento reproductivo y algunas hembras con inicios de gestación.

Para seleccionar los organismos de prueba se juzgó la calidad del lote:

Antes de iniciar las pruebas de toxicidad los peces se mantuvieron al menos durante 7 a 10 días, en las condiciones antes mencionadas.

- a) Mortalidad inferior al 5 % de la población: se admite el lote.
- b) Mortalidad superior al 5% de la población se rechaza

6.3 Pruebas de Toxicidad.

Al iniciar las pruebas de toxicidad, la alimentación de los organismos de prueba fue interrumpida 24 horas antes.

Para las pruebas de toxicidad aguda se utilizaron los métodos de prueba estándares y oficiales de la ASTM (1991). "American Society for Testing and Materials"

Se utilizaron como metales pesados al cromo en la forma de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) con una pureza de 99.5%, el cadmio como cloruro de cadmio ($CdCl_2$) con una pureza del 80.2%, y al zinc como cloruro de zinc ($ZnCl_2$) con una pureza de 99.5 %. Las concentraciones de ensayo se expresaron en peso por volumen (mg/L).

Para preparar las concentraciones de ensayo, se realizó inicialmente una solución madre (solución stock) de 1 g/L de tóxico disuelto en agua destilada.

Antes de las pruebas definitivas, se hicieron ensayos para determinar el intervalo de concentración-efecto eficaz, utilizando concentraciones de escala logarítmica (0.01, 0.1, 1.0, 10 y 100 mg/L de tóxico) el cual proporcionó información sobre el intervalo de concentraciones que se utilizaron en el ensayo definitivo (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones definitivas utilizadas para las pruebas (mg/L)

	ZINC (mg/l)	CADMIO(mg/l)	CROMO(mg/l)
CRÍAS	50, 40, 30, 20,10	8, 4, 2, 1, 0.1	80, 50, 40, 30, 20, 10, 1, 0.1
JUVENILES	50, 40, 30, 20,10	16, 8, 4, 2, 1	100, 80, 40, 20, 10
ADULTOS	50, 40, 30, 20,10	16, 8, 4, 2, 1	100, 80, 40, 20, 10

6.4 Descripción del método de ensayo.

Se realizó un ensayo de tipo semiestático, en el cual se realizó una renovación de medio cada 24 horas.

Los peces estuvieron contenidos en recipientes de 1500 ml. de plástico translucido, en cada recipiente se depositaron 10 organismos en 1000 ml de medio, se trabajó con cuatro replicas por cada concentración más el grupo control.

En este trabajo se expuso a los peces, a las sustancias de ensayo cromo, cadmio y zinc añadidas al medio, en un intervalo de concentraciones, durante un período de 96 horas y se registró la mortalidad cada 24 horas, se calcularon las concentraciones causantes de la muerte del 50 % de los peces (CL_{50} -96 hrs.). Cada 24 horas se hicieron observaciones y se contaron los peces diferenciándose los vivos de los muertos, se consideraron muertos, si al tocar el pedúnculo caudal no se produjo reacción alguna y no se percibió ningún movimiento opercular, los peces muertos se retiraron en el momento de cada observación, registrando la mortalidad y realizando el cambio de medio con la respectiva concentración de tóxico. Para calcular la Concentración Letal Media (CL_{50}) se utilizó el método Probit (Finney 1971), el cual consiste en métodos estadísticos para analizar datos de experimentos de concentración-respuesta y proporciona una estimación de la Concentración Letal Media y la precisión de esta estimación. En el análisis PROBIT los porcentajes de organismos muertos son convertidos a Probits (unidades de probabilidad) y las concentraciones son transformadas a logaritmos. La relación entre Probits y los valores logarítmicos de las concentraciones es aproximadamente lineal (USEPA, 1985, citado en Castañeda, 2000).

7. Resultados.

7.1 Toxicidad Aguda.

Tabla 2. Valores de CL_{50} -96 hrs. del pez *Poeciliopsis gracilis* en los estadios de crías, juveniles y adultos expuestos a los metales Cadmio, Cromo y Zinc. Valores promedio \pm error estándar.

Metal (mg/L)	CRÍAS	JUVENILES	ADULTOS
Cadmio	1,28 \pm 0,31	3,47 \pm 1,2	1,3 \pm 0,1
Cromo	6,1 \pm 1,6	47,42 \pm 5,3	42,17 \pm 3,5
Zinc	36,95 \pm 2,71	29,64 \pm 2,8	34,8 \pm 2,7

En la Tabla 2 se muestra que para el cadmio se encontraron valores CL_{50} 96 hrs. para crías de 1.28 mg/L, los juveniles con un valor de 3.47 mg/L y los adultos con un valor de 1.3 mg/L.

Para el cromo se obtuvo una CL_{50} 96 hrs. de 6.1 mg/L en crías, 47.42 mg/L en juveniles y 42,17 mg/L en adultos.

Para el zinc se encontraron valores de CL_{50} 96 hrs. para crías de 36.95 mg/L, juveniles 29.64 mg/L y para adultos 34.8 mg/L

7.2 Cromo

Realizando la comparación de la toxicidad del cromo, entre los estadios utilizados del pez *P. gracilis* (crías, juveniles y adultos), podemos decir que el estadio de crías fue el más sensible, sin embargo, el estadio adulto y el juvenil fueron respectivamente más tolerantes. (Fig. 3).

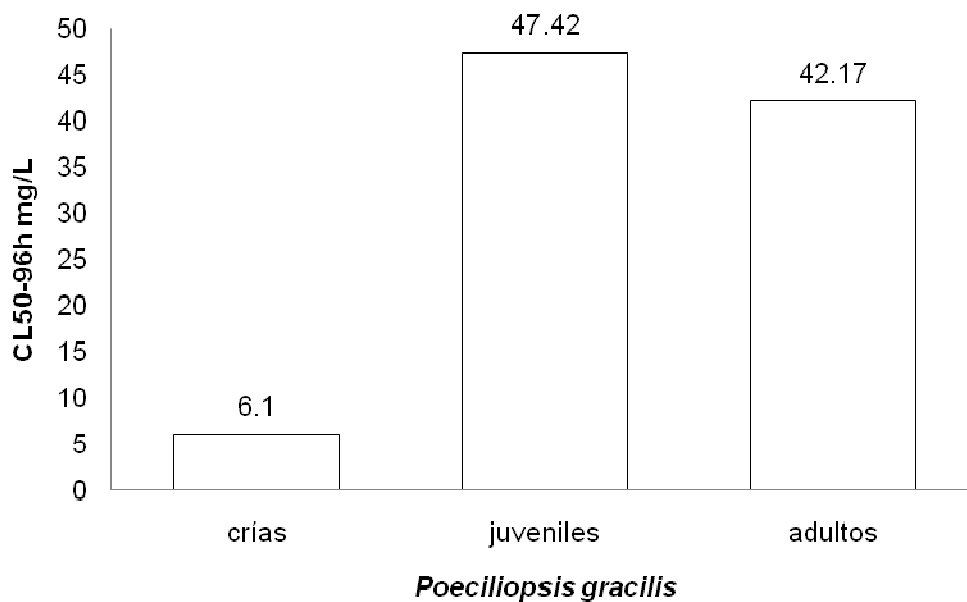


Figura 3. Comparación entre estadios de *P. gracilis* utilizando cromo.

7.3 Cadmio

Comparando la toxicidad del Cadmio entre los distintos estadios del pez de esta prueba, podemos decir que los estadios de crías y adultos presentaron mayor sensibilidad respectivamente, y el estadio juvenil presentó mayor tolerancia (Fig. 4).

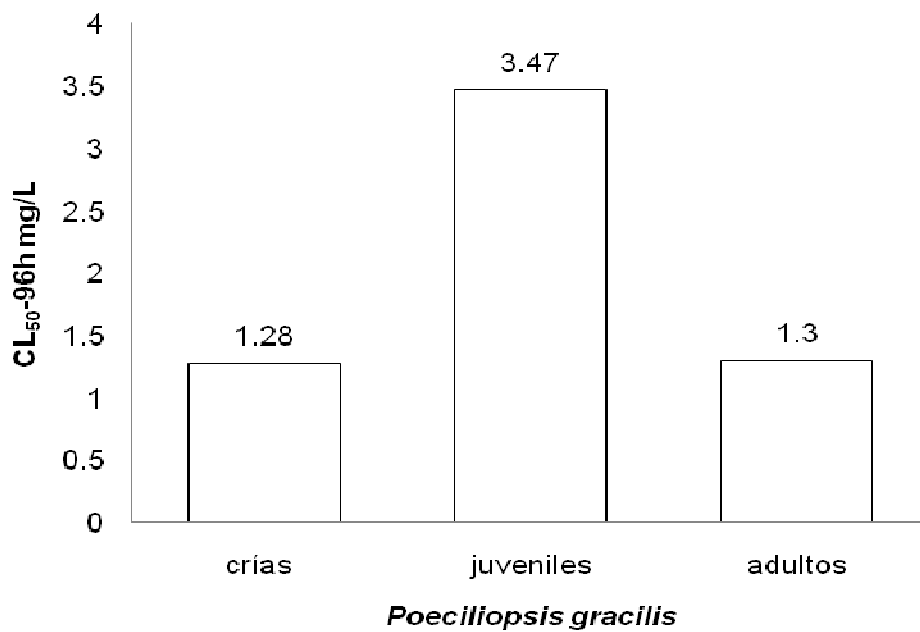


Figura 4. Comparacion entre estadios utilizando cadmio.

7.4 Zinc

Comparando la toxicidad encontrada del zinc entre los distintos estadios del *P. gracilis*, se observó que el estadio juvenil presentó una mayor sensibilidad a este metal, ya que los estadios de adultos y crías mostraron respectivamente una mayor tolerancia a dicho tóxico. (Fig. 5)

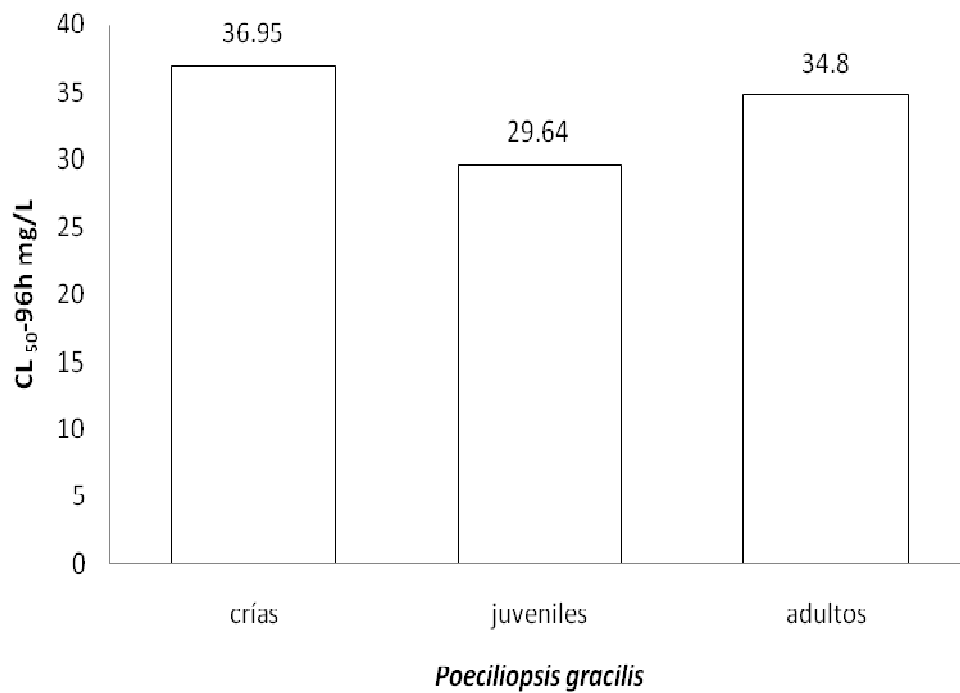


Figura 5. Comparacion entre estadios utilizando zinc.

7.5 Sensibilidad de los estadios entre los metales.

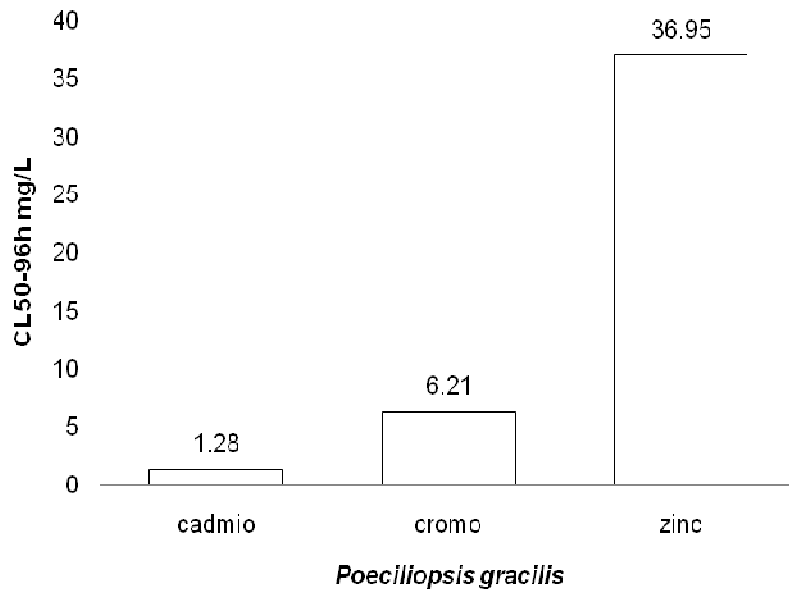


Figura 6. Respuesta del estadio de crías a los metales.

La figura 6 muestra que en el estadio de crías, el metal más tóxico fue el Cadmio seguido por el Cromo y por último el Zinc.

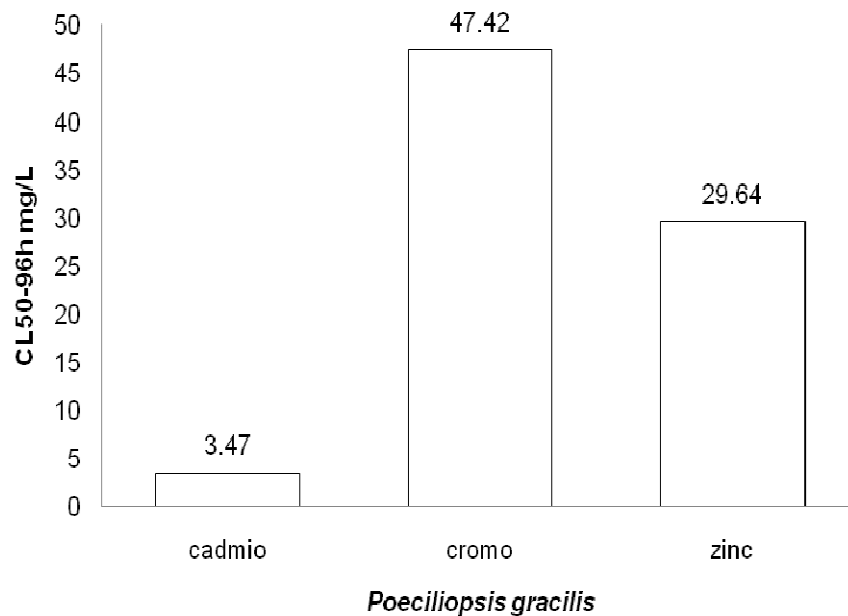


Figura 7. Respuesta de juveniles a los metales.

En la Figura 7 se observa que en el estadio de juveniles la mayor toxicidad la presenta el Cadmio seguido por el Zinc y al final el menos tóxico fue el Cromo.

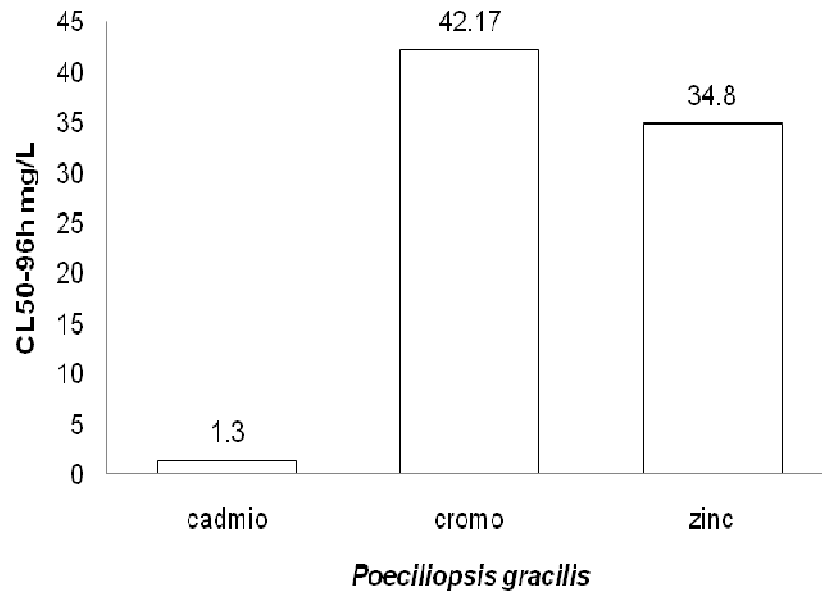


Figura 8. Respuesta de los adultos a los metales.

En la Figura 8 se muestra que en estadio de adultos del pez *P. gracilis*, el metal que presentó mayor toxicidad fue el Cadmio, menor al anterior fue el Zinc y por último el Cromo con menor toxicidad.

8. Discusión

8.1 Cadmio

El Cadmio fue el metal que presentó la mayor toxicidad, siendo para *Poeciliopsis gracilis*, los estadios de crías y adultos los más sensibles (1.28 y 1.3 mg/L respectivamente), y los juveniles fueron el estadio más tolerante (3.47 mg/L). Martins y colaboradores (2007) reportaron para *Danio rerio* un valor CL_{50} 96 hrs. de 2.2 mg/L de Cd el cual, es cercano al valor registrado para *P. gracilis*

Al obtener las crías de *P. gracilis* el valor de 1.28 mg/L se puede apreciar la cercanía con el valor que encuentra Hutchinson y colaboradores (1994) para las larvas del pez *Cyprinodon variegatus* (CL_{50} 1.23 mg/L), que aunque este es un pez de mayor talla existe una respuesta similar a la de *P. gracilis* (organismo de talla pequeña). Sin embargo, Chapman (1978) usando alevines de las especies *O. tshawytscha* y *Salmo gairdneri* reportó una CL_{50} 96 hrs. de 0.026 y 0.027 mg/L, con lo anterior se puede decir que aunque *P. gracilis* es una especie pequeña es más tolerante a este metal con respecto a las especies estudiadas por Chapman.

P. gracilis en sus estadios de crías y juveniles arrojó valores (1.28 y 3.47 mg/L) que al ser comparados con lo realizado por Buhl (1997) en larvas y juveniles de los peces *Ptychocheilus lucius*, *Gila elegans* y *Xyrauchen texanus*, obteniendo 0.078 a 0.123 mg/L de Cd, con esto podemos observar que *P. gracilis* es un pez más tolerante a este metal.

Aún siendo *P. gracilis* un vertebrado, podemos comparar los valores obtenidos para este pez (1.28, 3.47 y 1.3 mg/L) y los reportados por Pérez-Legaspi (2001) para algunas especies del Filo Rotífera, los cuales obtuvieron (CL_{50} -48 hrs.) 0.23 a 0.35 mg/L de Cd. Con lo anterior podemos

observar que las especies de rotíferos probadas, aunque son invertebrados microscópicos presentan una mayor sensibilidad al cadmio, y como se puede observar en la tabla 4 estas comparaciones de CL_{50} para este metal son importantes ya que contribuye para obtener un mejor conocimiento de sensibilidades en distintos organismos que integren una cadena trófica de algún ecosistema y así poder decidir mejores normas de cuidado y prevención.

Al ser considerado el Cadmio un metal pesado que produjo efectos tóxicos en el pez de esta prueba, aún en bajas concentraciones, podemos decir que existió una variación de sensibilidad entre los diferentes estadios, más en todos ellos existió una elevada toxicidad, esto coincide con lo reportado por Páez (2005), ya que dicho metal está clasificado como agente cancerígeno, provocando daños en la membrana celular, también como lo reporta Hirt y Domitrovic (1997) produce generalmente sofocamiento en los peces, debido a los precipitados o coagulados de mucoproteínas sobre el epitelio branquial, esto constituye un bloqueo del intercambio de gases, la excreción de productos de desecho y la osmorregulación, otros órganos que también pudieron ser dañados por la exposición al Cd son el hígado, el [sistema inmunológico](#), el [sistema nervioso](#) y la [sangre](#).

8. 2 Cromo

Como se observa en la figura 3, para el cromo se obtuvo 6.1 mg/L en crías, 47.42 mg/L en juveniles y 42,17 mg/L en adultos, se observó que el estadio de crías es más sensible en comparación con los otros dos, los juveniles presentaron mayor tolerancia que los adultos.

En el estadio adulto de *P. gracilis* para el cromo se obtuvo una CL_{50} 96 hrs. de 42.17 mg/L, lo cual al ser comparado con lo reportado por Ashish y Banalata (2008) quienes encontraron una CL_{50} 96 hrs. de 41.75 mg/L para la especie *Channa punctatus* (adulto). Podemos decir que el cromo conserva su toxicidad independientemente de la especie y del tamaño.

De igual forma realizando el promedio de la CL_{50} 96 hrs. de Cromo para los distintos estadios de *P. gracilis* (31.89 mg/L) podemos comparar con lo obtenido por Hutchinson y colaboradores (1994), los cuales obtuvieron una CL_{50} 96 hrs. para larvas del pez *Cyprinodon variegatus* valores de 31.6 mg/L pudiendo observar que la sensibilidad entre estas dos especies es muy cercana.

Sin embargo, para los estadios de crías y juveniles de *P. gracilis* son evidentemente inferiores que los encontrados por Buhl (1997) en los peces *Ptychocheilus lucius*, *Gila elegans* y *Xyrauchen texanus* en los cuales obtuvieron valores CL_{50} 96 hrs. de 32 a 123 mg/L de Cr, mostrando así mayor sensibilidad el Poecilido de esta prueba (6.1 y 42.4 mg/L).

De igual forma podemos observar que la sensibilidad de crías para este metal, al ser comparada con los valores obtenidos por González y Aportela

(2000) fue diferente. Aunque los autores trabajaron con nauplios de *Artemia salina*, obteniendo una CL_{50} 24 hrs. de 12.5 mg/L de Cr, con estos resultados se puede observar que los nauplios de *A. salina* fueron un 100 % más tolerantes con respecto a las crías de *P. gracilis*, lo cual sugiere que aunque poseen grandes diferencias significativas, al ser organismos de distintos sistemas resalta la importancia en el aporte de conocimientos específicos de respuesta a un mismo metal a diferentes niveles tróficos (Tabla 5), así mismo, esto se corrobora con lo reportado por Páez (2005), donde menciona que intervalos de 5 -100 ppm de cromo son representativos de la mayoría de los niveles de respuesta aguda presentados en la literatura, para las dos especies químicas del cromo (Cr^3 y Cr^6) en diferentes tipos de organismos marinos.

Después del cadmio, el cromo fue quien presentó la mayor toxicidad, esto se corrobora con lo reportado por varios autores (Ramírez 1998, Buhl 1997, Páez 2005 y Ashish y Banalata 2008) quienes describen que los organismos que aun no han desarrollado o madurado correctamente sus sistemas de depuración de agentes externos, son vulnerables a ellos, como en este caso al cromo, ya que es absorbido con gran facilidad a través de la piel, por el tracto gastrointestinal o al presentar naturalmente una mayor movilidad opercular (crías).

8.3 Zinc

Dentro de este estudio, el zinc fue el que presentó menor toxicidad para el poecilido; la mayor sensibilidad la presentó el estadio juveniles con 29.64 mg/L seguido por los adultos con 34.8 mg/L, observando que las crías presentaron un poco más de tolerancia con 36.95 mg/L.

Como se menciona anteriormente el zinc presento menor toxicidad con respecto a los metales pesados cadmio y cromo, esto concuerda con lo reportado por Cusimano y Brakke (1986), quienes realizaron pruebas de toxicidad aguda de distintos metales pesados sobre la especie *Salmo gairdneri*, encontrando al zinc como el menos tóxico.

El valor promedio para zinc en los tres estadios del pez de esta prueba fue de 33.79 mg/L, lo cual al ser comparado con los reportes de Chapman (1978) en donde trabajó con *O. tshawytscha* y *Salmo gairdneri*, obteniendo valores de 0.093 a 0.815 mg/L (CL_{50} 96 hrs.) por lo cual podemos observar una mayor tolerancia para el pez *P. gracilis*. Así mismo, Cusimano y Brakke (1986) reportaron para la especie *Salmo gairdneri* valores de CL_{50} 96 hrs. de 0.671 mg/L de zinc, pudiendo así analizar que la toxicidad entre ambos organismos fue diferente y la mayor tolerancia la obtuvo *P. gracilis* (29.64 hasta 36.95 mg/L).

Los valores de la CL_{50} 96 hrs. para este Poecilido son de resaltar ya que en comparación con los reportados para *Danio rerio* (23.1 mg/L) por Martins y colaboradores (2007) observamos la cercanía entre los valores, dando esto

una mayor importancia a los resultados de esta prueba, ya que *D. rerio* es un organismo de talla pequeña, estudiado y utilizado como especie centinela en muchos estudios de investigación. Así mismo considerado como organismo bioindicador (Martínez-Jerónimo y Espinosa, 2005).

Se puede observar que las respuestas de la toxicidad del Zinc presentada en los diferentes estadios de *P. gracilis*, fueron distintas, pero no muy lejanas, ya que al ser el Zinc un oligoelemento esencial, en el sentido que forma parte de numerosas enzimas necesarias en el metabolismo animal, además de cumplir también con el aumento de la inmunidad natural contra infecciones bacterianas, no deja de ser tóxico en concentraciones elevadas. Así mismo, esto se corrobora con lo analizado por Sánchez (2008) quien menciona que los peces presentan una biorregulación y en el caso de producirse un aumento general de la concentración de metales, los organismos poseen mecanismos para almacenarlos o eliminarlos; siendo que entre los diferentes estadios del pez, las cantidades de este metal son metabolizadas de diferente forma, utilizándose en beneficio del pez, obteniendo así distintas sensibilidades para dicho metal. Así mismo, como se puede observar en la Tabla 6 la toxicidad aguda del zinc puede variar independientemente de la especie.

Como se pudo observar en este estudio las concentraciones letales medias (CL_{50} 96 hrs.) evaluadas para cada metal fueron diferentes en cada estadio, como menciona Chapman (2003) la gran variedad de mecanismos de resistencia existente, es consecuencia de la diversidad natural de los seres vivos y de que han coexistido e interactuado los metales y los organismos desde épocas remotas. Sin embargo, la conservación de algunos sistemas de resistencia y tolerancia a lo largo del árbol filogenético puede haber resultado de su mayor capacidad para protegerse contra los efectos de los

metales pesados. En consecuencia, la exposición continua a los agentes tóxicos, además de seleccionar a los organismos más resistentes, contribuyen a los mecanismos de adaptación, donde sólo aquellos organismos que desarrollen mecanismos eficaces de resistencia permanecerán en los ambientes alterados, así, los metales tóxicos funcionan como agentes selectivos que promueven la predominancia de los organismos tolerantes e inducen la desaparición de los organismos susceptibles, pudiendo afectar a los organismos nativos de un hábitat (Mantínez-Jerónimo y Espinosa, 2005).

Los datos de las pruebas de toxicidad aguda obtenidos para el cromo, cadmio y zinc en este estudio, nos sirven para analizar los valores máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. La Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de Enero de 1997, fue propuesta con el fin de prevenir y controlar la contaminación de las aguas y bienes nacionales, así como proteger la infraestructura de dichos sistemas y es de observación obligatoria para los responsables de dichas descargas. Esta Norma solo considera los siguientes elementos: arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo y zinc. Y establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales para metales pesados siendo: para cadmio entre 0.1 y 0.2 mg/L, para zinc entre 10 y 20 mg/L y para cromo de entre 0.5 y 1.0 mg/L. Uno de los objetivos de este trabajo fue evaluar la toxicidad aguda del cadmio, cromo y zinc en el pez *P. gracilis*. Así mismo, sabiendo que dichas Normas Oficiales se realizan con el 10 % de la Concentración Letal Media encontrada para distintos tóxicos, podemos decir que al obtener dichos porcentajes de las CL_{50} de estas pruebas, los valores entran en los rangos de la norma (NOM-001-ECOL-

1996) (tabla 3), lo que sugiere que las descargas en concentraciones crónicas de los tres metales utilizados pueden presentar efectos en los distintos estadios evaluados de *P. gracilis*.

En los distintos ámbitos relacionados con los problemas de contaminación, tiene que hacerse conciencia de que la contaminación por metales pesados y de hecho por otros agentes tóxicos, como son pesticidas, solventes orgánicos e isótopos radioactivos, no van a disminuir ni a permanecer en la situación actual, sino que continuarán aumentando en el futuro inmediato y a largo plazo. Esta predicción se basa en los resultados obtenidos en estudios de toxicidad y en el aumento de las actividades industriales a escala mundial.

Tabla 3. Comparación de los valores de CL_{50} 96 hrs. de *P. gracilis* y los valores máximos de la NOM-001-ECOL-1996.

Metales	NOM-001-ECOL-1996	<i>Poeciliopsis gracilis</i>
Cadmio mg/L	0.1 y 0.2	1.28 - 3.47
Cromo mg/L	0.5 y 1.0	6.1 - 42.17
Zinc mg/L	10 y 20	29.64 - 36.95

Tabla 4. Toxicidad Aguda del Cadmio

Organismo	Tiempo de Exposición	Concentración	Referencia
<i>Poeciliopsis gracilis</i> (crías)	96 horas	1.28 mg/L	En este trabajo
<i>Poeciliopsis gracilis</i> (juveniles)	96 horas	3.47 mg/L	En este trabajo
<i>Poeciliopsis gracilis</i> (adultos)	96 horas	1.3 mg/L	En este trabajo
<i>Lecane hamata</i>	48 horas	0.23 mg/L	Pérez-Legaspi, 2001
<i>Lecane luna</i>	48 horas	0.35 mg/L	Pérez-Legaspi, 2001
<i>Lecane quadridentata</i>	48 horas	0.28 mg/L	Pérez-Legaspi, 2001
<i>Colossoma macropomum</i> <i>x Piaractus</i> <i>brachypomus</i>	96 horas	22.96 mg/L	Vásquez et. al, 2005
<i>O. tshawytscha</i>	96 horas	26 µg/L	Chapman, 1978
<i>Salmo gairdneri</i>	96 horas	27 µg/L	Chapman, 1978
<i>Salmo gairdneri</i>	96 horas	66 µg/L	Cusimano y Brakke, 1986
<i>Cyprinodon variegatus</i>	96 horas	1.23 mg/L	Hutchinson et al., 1994
<i>Tisbe battagliai</i>	96 horas	0.34 mg/L	Hutchinson et al., 1994
<i>Salvelinus fontinalis</i>	96 horas	0.0025 - 0.07 µg/L	Carroll et al., 1979
<i>Danio rerio</i>	96 horas	2.2 mg/L	Martins et al., 2007
<i>Ptychocheilus lucius</i>	96 horas	64-135 µg/L	Buhl, 1997
<i>Gila elegans</i>	96 horas	111-207 µg/L	Buhl, 1997
<i>Xyrauchen texanus.</i>	96 horas	116-197 µg/L	Buhl, 1997

Tabla 5. Toxicidad Aguda del Cromo

Organismo	Tiempo de Exposición	Concentración	Referencia
<i>Poeciliopsis gracilis</i> (crías)	96 horas	6.1 mg/L	En este trabajo
<i>Poeciliopsis gracilis</i> (juveniles)	96 horas	47.42 mg/L	En este trabajo
<i>Poeciliopsis gracilis</i> (adultos)	96 horas	42.17 mg/L	En este trabajo
<i>Lecane hamata</i>	48 horas	4.41 mg/L	Pérez-Legaspi, 2001
<i>Lecane luna</i>	48 horas	4.50 mg/L	Pérez-Legaspi, 2001
<i>Lecane quadridentata</i>	48 horas	4.50 mg/L	Pérez-Legaspi, 2001
<i>Channa punctatus</i>	96 horas	41.75 mg/L	Ashish y Banalata, 2008
<i>Cyprinodon variegatus</i>	96 horas	31.6 mg/L	Hutchinson et al., 1994
<i>Tisbe battagliai</i>	96 horas	5.9 mg/L	Hutchinson et al., 1994
<i>Artemia salina</i>	24 horas	12.5 mg/L	González y Aportela, 2000
<i>Ptychocheilus lucius</i>	96 horas	50000-153000 µg/L	Buhl, 1997
<i>Gila elegans</i>	96 horas	66000-128000 µg/L	Buhl, 1997
<i>Xyrauchen texanus.</i>	96 horas	26000-86000 µg/L	Buhl, 1997

Tabla 6. Toxicidad Aguda del Zinc

Organismo	Tiempo de exposición	Concentración Letal media	Referencia
<i>P. gracilis</i> (crías)	96 horas	36.95 mg/L	En este trabajo
<i>P. gracilis</i> (juveniles)	96 horas	29.64 mg/L	En este trabajo
<i>P. gracilis</i> (adultos)	96 horas	34.8 mg/L	En este trabajo
<i>O. tshawytscha</i>	96 horas	661 -701 µg/L	Chapman, 1978
<i>Salmo gairdneri</i>	96 horas	651- 815 µg/L	Chapman, 1978
<i>Salmo gairdneri</i>	96 horas	0.671 mg/L	Cusimano y Brakke, 1986

9. Conclusiones

- *Poeciliopsis gracilis* presentó mayor sensibilidad al cadmio, seguido por el cromo y al final el zinc.
- Las concentraciones letales medias (CL₅₀ 96 hrs.) evaluadas para cada metal fueron diferentes en cada estadio.
- El Cadmio fue el metal que presentó mayor toxicidad en todas las pruebas siendo los estadios de crías y adultos los más sensibles.
- Para Cromo el estadio de crías fue más sensible en comparación con los otros dos.
- Para el Zinc la mayor sensibilidad la presentó el estadio juvenil.

10. Anexo de graficas.

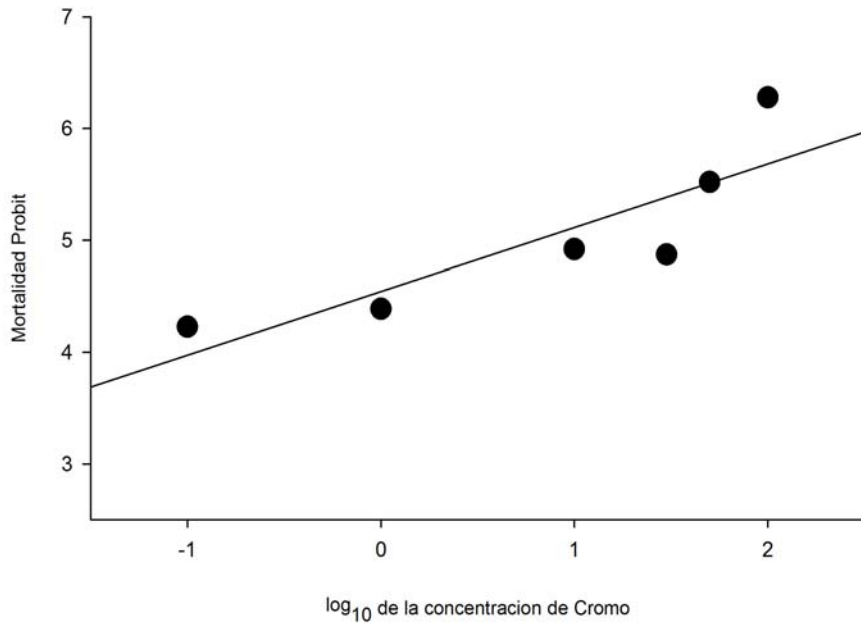


Figura 9 Relación entre \log_{10} de la concentración de Cromo y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Crías).

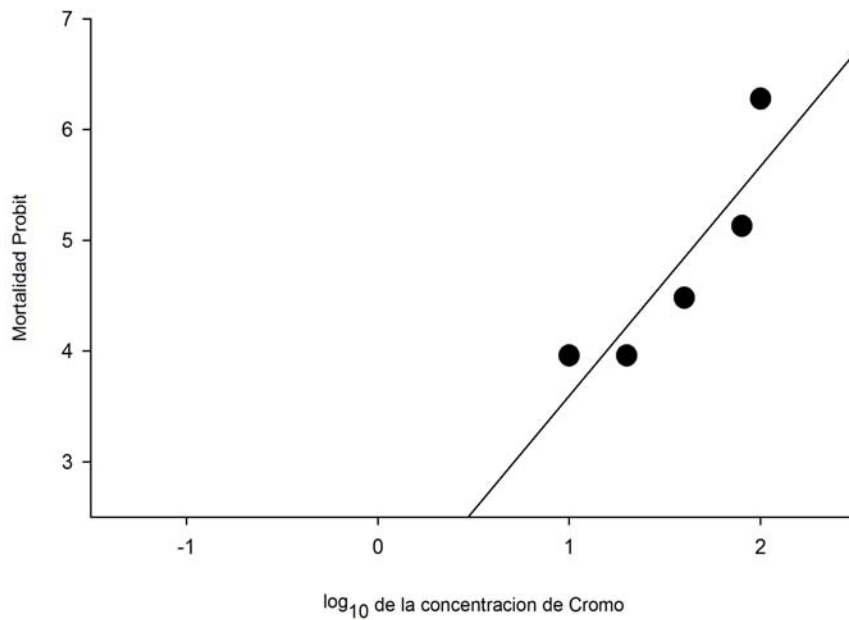


Figura 10. Relación entre \log_{10} de la concentración de Cromo y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Juveniles)

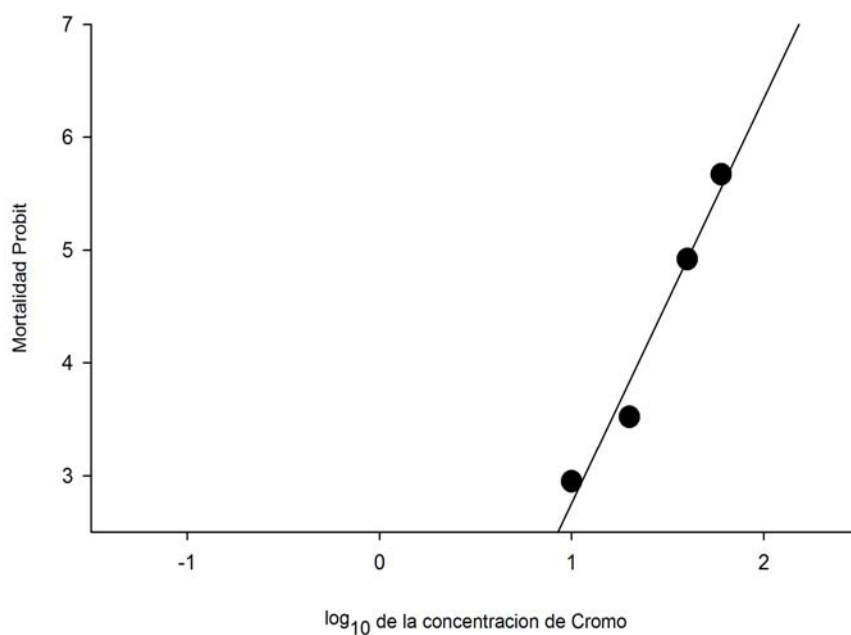


Figura 11. Relación entre \log_{10} de la concentración de Cromo y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Adultos)

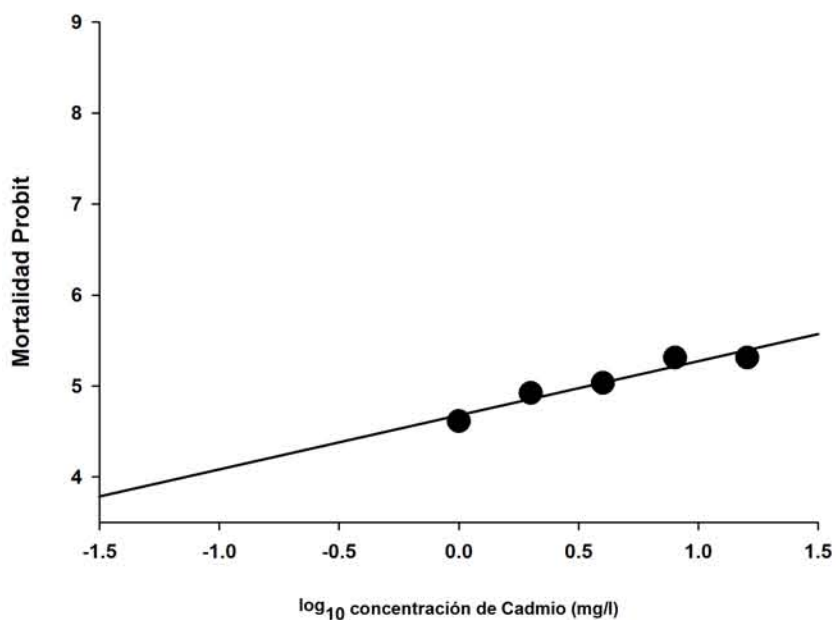


Figura 12. Relación entre \log_{10} de la concentración de cadmio y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Crías)

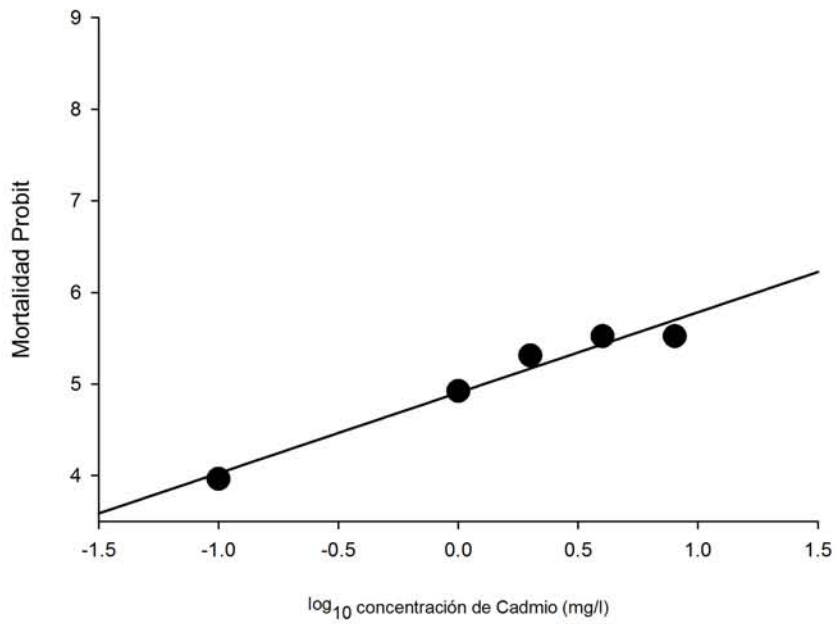


Figura 13. Relación entre \log_{10} de la concentración de cadmio y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Juveniles)

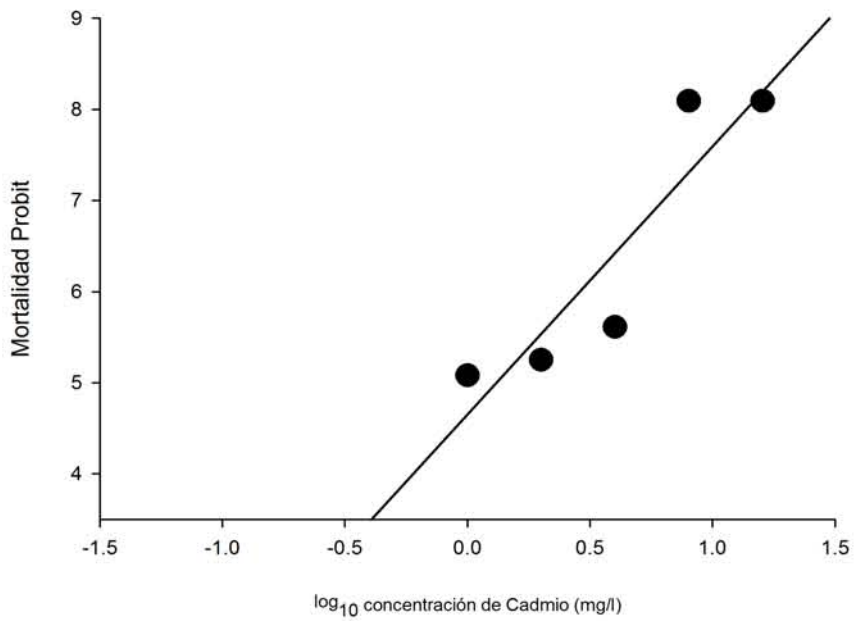


Figura 14. Relación entre \log_{10} de la concentración de cadmio y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Adultos)

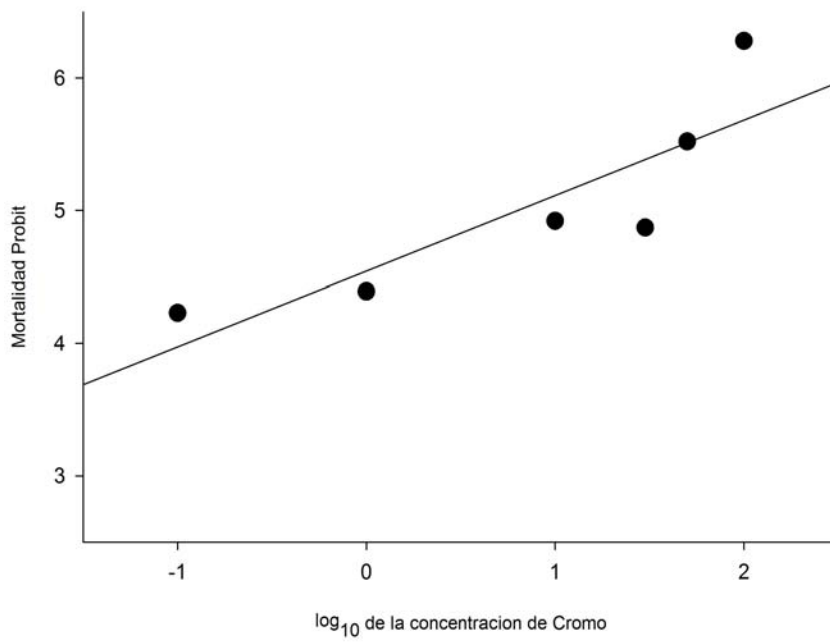


Figura 15. Relación entre \log_{10} de la concentración de zinc y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Crías)

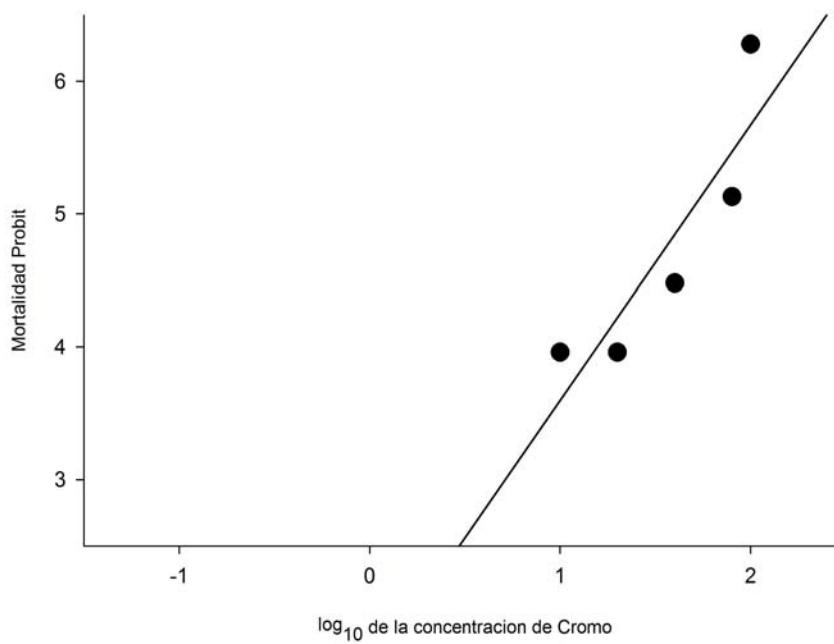


Figura 16. Relación entre \log_{10} de la concentración de zinc y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Juveniles)

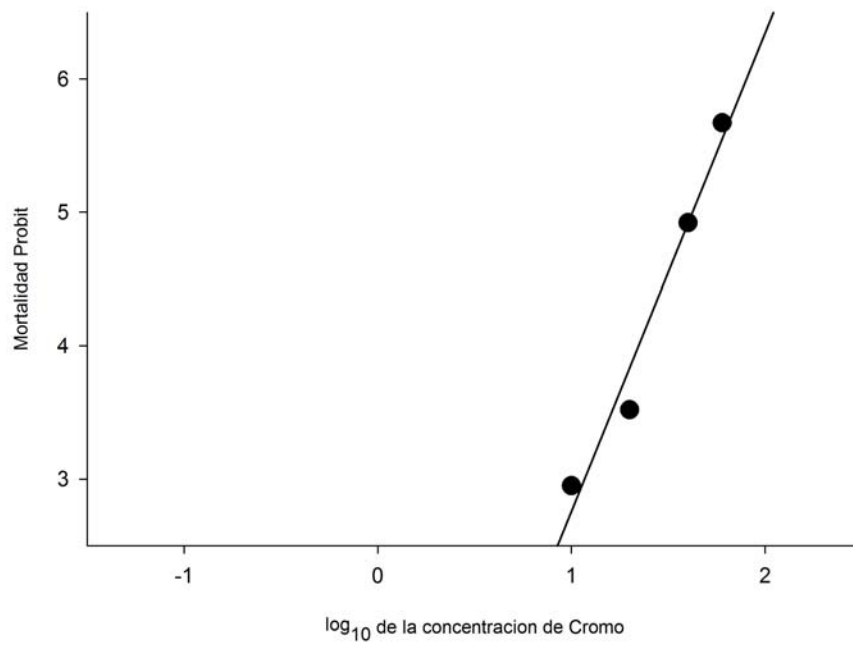


Figura 17. Relación entre \log_{10} de la concentración de zinc y la mortalidad Probit de *P. gracilis* (Adultos)

11. Glosario.

Bioacumulación. Aumento progresivo de la cantidad de una sustancia en un organismo, órgano o tejido como consecuencia que la velocidad de absorción es superior a la velocidad de eliminación, debido a la captación de todo el medio, incluyendo la comida.

Bioconcentración. La acumulación neta de una sustancia por un organismo debido a la captación de una solución acuosa.

Biomagnificación. Resultado del proceso de bioconcentración y bioacumulación por el cual las concentraciones de químicos bioacumulados se incrementan en el tejido. El término implica la transferencia eficiente de químicos desde el alimento hacia los consumidores, por lo tanto la concentración de residuos incrementa sistemáticamente desde un nivel trófico hacia el siguiente.

Biomarcadores o Bioindicadores. Ha sido definida como una respuesta biológica que puede estar relacionado a una exposición de algún xenobiótico.

Concentración Letal Media (CL₅₀). Concentración de una sustancia en el medio que estadísticamente causa la muerte del 50% de los animales de ensayo, en condiciones definidas

Contaminante. Una sustancia que esta presente en el ambiente debido a la liberación de una fuente antropogénica y se cree que sea potencialmente peligrosa.

Ecotoxicología. Estudio de los efectos tóxicos de los agentes físicos y químicos sobre las poblaciones y comunidades de los ecosistemas.

Exposición. Contacto del organismo receptor con un agente químico en un periodo de tiempo determinado.

Grupo control. Grupo establecido antes de iniciar un estudio, formado por seres humanos animales o células, idéntico al conjunto que se estudia y mantenido en su misma situación y condiciones pero sin exposición al factor de riesgo.

Población. Grupo de individuos de una sola especie que se reproduce entre si.

Probit. Unidad de probabilidad obtenida añadiendo 5 a la desviación normal de una distribución normal estandarizada de resultados en un estudio dosis-respuesta. La representación gráfica de las respuestas en unidades probit frente al logaritmo de la dosis o concentración es lineal en datos con distribución normal logarítmica.

Prueba de toxicidad aguda Estudio experimental para determinar los efectos adversos que pueden aparecer en un periodo corto de tiempo, después de una dosis única de una sustancia.

Pruebas de Riesgo Ecológico (ERA). Un proceso que evalúa la probabilidad que puedan ocurrir efectos ecológicos adversos o estén ocurriendo, como un resultado de exposición a uno o mas agentes (Ecological Risk Assessment)

Tolerancia. Disminución de los efectos de una sustancia.

Villanueva, S. T. A. 2004. Evaluación de la respuesta de crías de carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) a exposiciones agudas y crónicas de sulfato de cobre a 21° C. Tesis. UNAM. FES Iztacala. México. 32 pp.

12. Bibliografía Citada.

Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 1999. Reseña Toxicológica del Cadmio (en inglés). Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Servicio de Salud Pública.

Alcaraz, G. y Espína, S. 1993. Efecto de la temperatura y del cloruro sobre la toxicidad del nitrito en la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella*, (PICES, CYPRINIDAE). Rev. Int. Contaminación Ambiental. 9(1), 21-28.

Álvarez del Villar, J. 1970. Peces mexicanos (claves) Secretaria de Industria y Comercio. Dirección General de Piscicultura. México. 167 pp.

ASTM. 1991. Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*. Annual Book de ASTM Standards. Vol. 11.04 E. 1440. American Society for Testing and Materials, Philadelphia. PA. USA.

Braunbeck, T., Hinton, D. E y Streit, B. 1998. Fish Ecotoxicology. Birkhauser Verlag Basel/Switzerland.

Bryan, G. W. 1976. Heavy metals contamination in the sea. En Johnston, R Ed. Marine Pollution. Academic Press. Londres. 185-302 pp.

Buhl, K. 1997. Relative Sensitivity of Three Endangered Fishes, Colorado Squawfish, Bonytail, and Razorback Sucker, to Selected Metal Pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety. 37, 186-192.

Cairns, J., Niederlehner, R. y Orvos, D.R. 1992. Predicting Risk in the ecosystems. Pinceton Scientific Pub. Co. Princeton, N.J. 347 pp.

Castañeda, O. 2000. Efecto Tóxico del Aluminio Presente en los Lodos Generados por la Planta Potabilizadora "Los Berros" del Sistema Cutzamala. UNAM, Facultad de Ingeniería.

Cervantes, C. y Moreno-Sánchez R. 1999. Contaminación ambiental por metales pesados: Impacto en los seres vivos. AGT Editor, S.A. 157pp.

Colección Nacional de Peces Dulceacuícolas Mexicanos Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN (IPN-ENCB) Lab. De Ictiología y Limnología

Conabio, 2008 en http://www.conabio.gob.mx/invasoras/index.php/Especies_invasoras_-_Peces

Chapman, G. A. 1978. Toxicities of cadmium, copper, and zinc to four juvenile stages of Chinook salmon and steelhead. *Trans. Am Fish. Soc.*107(6) 841-847.

Chapman M.P., Wang F, Janssen R.C., Goulet R.R. y Kamunde N.C. 2003. Conducting Ecological Risk Assessment of Inorganic Metals and Metalloids: Current Status. *Human and Ecological Risk Assessment: Vol 9 No. 4* 641-697.

Cusimano, R. F. y Brakke, D. F. 1986. Effects of Ph on the toxicities of cadmium, copper and zinc to steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* Vol. 43.

Espinosa-Pérez, H., Gaspar, D. M. T. y Fuentes, M. P. 1993. Listados Faunísticos de México. III. Los Peces Dulceacuícolas Mexicanos. Instituto de Biología, UNAM., México. 99 pp.

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

Hirt, L. M. y Domitrovic, H. A. 2001 Toxicidad y Respuesta Histopatológica en *Aequidens portalegrensis* (Pisces, Cichlidae) Expuestos a Bicloruro de Mercurio en Ensayos de Toxicidad Aguda y Subletales Instituto de Ictiología del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE) *Rev.ictiol*,10 (1/2):37-52.pp

Iannacone, J., Onofre, R. y Huanqui, O. 2007. Efectos ecotoxicológicos del cartap sobre *Poecilia reticulata* "guppy" (Pocilidae) y *Paracheiroduon innesi* "Neon tetra" (Characidae). *Ambiente Acuatico. Gayana* 71(2): 170-177 pp.

INE. 2008. Dirección General de Investigación sobre la contaminación Urbana y Regional. Investigación sobre Sustancias Químicas y Riesgos Ecotoxicológicos. Instituto Nacional de Ecología .México D.F. <http://www.ine.gob.mx>.

James, M. y Wissing, E. 1988. Effect of sublethal concentrations of copper on the critical termal maxima (CTMax) of the fantail (*Etheostoma flabellare*) and Johnny (*E. nigrum*) darters. *Aquatic toxicology*, 12: 311-322 pp.

- Martínez-Jerónimo, F. y Espinosa, C. F. 2005. Ensayo de Toxicidad Aguda con Larvas y Juveniles de los peces *Brachydanio rerio* y *Poecilia reticulata*. *Hydrobiologia*. 115-128 pp.
- Martins, J., Oliva, T. L. y Vasconcelos, V. 2007. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environment International* 33:414-425 pp.
- Mishra, A.K. y Mohanty, B. 2008. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environ. Tóxicol. Pharmacol.* 26, 136-141 pp.
- Munawar, M., Munawar, I. F., Weisse, T., Leppard, G.G. y Legner, M. 1995. The significance and future potencial of usig microbes for assessing ecosystems health; The Great Lakes example. *G. Aquatic. Ecosys. Health* 3, 295-310 pp.
- Murugan, S.S., Karuppansamy, R., Poongodi, K. y Puvaneswari, S. 2008. Bioaccumulation Pattern of Zinc in Freshwater Fish *Channa punctatus* (Bloch.) After Chronic Exposure Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 8: 55-59 pp.
- Páez, O. F. 2005. Fuentes de Metales en la Zona Costera Marina. En: Golfo de México contaminación e Impacto ambiental. 2º Edición. pp. 329-341pp.
- Pérez-.Legaspi, I. A. y Rico-Martínez, R. 2001. Acute toxicity test on three species of the genus *Lecane* (Rotífera: Monogononta). *Hidrobiología* 446/447: 375-381 pp.
- Ramírez-Pérez, T. 2005. Toxicidad y efecto comparativo del cromo y cadmio sobre el crecimiento poblacional y la tabla de vida de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus patulus*. Tesis de Maestría en Ciencias. IPN. 106 p.
- Rand, M. G. 1995. *Fundamental of Aquatic Toxicology: Effect, environmental fate, and risk assessment*. 2ºEdición. E.U.A. 1150 p.
- Roland, A. y Isberner, K. 1998. Testing of chemicals with fish -a critical evaluation of test with special regard to zebrafish. en *Fish Ecotoxicology*. Ed. Braunbeck. T.,Hinton.D.E. Birkhauser.
- Sánchez, E. Y. 2008. Metales Pesados en Ambientes Acuáticos Pampeanos. Cap VI. En *Espejos en la Llanura. Nuestras Lagunas de la Región Pampeana*.91 - 98 pp.
- 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 pp.
- Sarma, S. S. S., Garcia-Garcia., S. Nandini. 2006. Turbidity mitigates lead toxicity to cladocerans (Cladocera). *Ecotoxicology* 15: 425-436
- Snell, T.W. y Persoone, G. 1989. Acute toxicity bioassays using rotifers II. A Freshwater test with *Brachionus rubens*. *Aquatic Toxicology.* 14(1); 81-92 pp.
- Suter. G.W., Efroymsen, R.A., Sample, B.E. y Jones, D.S. 2000. Ecological Risk Assessment for Contaminated Sites. Ed. Lewis Publishers. U.S.A. 438 pp.
- Turk, A., Turk, J. y Wittes, T.J. 1993. Ecología-Contaminación-Medio Ambiente. Nueva Editorial Interamericana México. 227 pp.
- Vaal, M., Van der Wal, T. J., Hermens., J. y Hoekstra, J. 1997. Pattern Analysis of the variation in the sensitive of aquatic species to toxicants. *Chemosphere.* 35:1921-1309 pp.
- Vásquez, R., Bastardo, A. y Mundarain, I. K. 2005. Ensayo de toxicidad aguda CL50-96h con acetato de cadmio y parámetros hematológicos en el híbrido cultivado *Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*. *Zootecnia Tropical* 23(3):247-257.