

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**



**“Interacción entre nivel de alimento (*Chlorella vulgaris*) y Cadmio sobre el cladóceros *Alona glabra*”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIOLOGO PRESENTA:**

**ERNESTO ALEJANDRO OCHOA CERVANTES**

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. EN C. NANDINI SARMA**

**SINODALES:**

**DR. EN C. SERGIO CHÁZARO OLVERA**

**DR. EN C. S.S.S. SARMA**

**DR. EN C. JOSÉ LUIS GAMA FLORES**

**M. EN C. TERESA RAMIREZ PÉREZ**

**TLALNEPANTLA, ESTADO DE MEXICO. 2010**



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

Los retos mayores son los que uno libra contra si mismo y a veces uno no es capaz de librarlos solo. Agradezco a todos los que directamente o indirectamente hicieron que me formara y hacen que me siga formando, y que me memoria hoy los trae aquí:

Adrián	Laura Teresa
Alejandra	Laura Rocío
Beatriz Gloria	Leticia
Beatriz Silvia	Libia
Daniel	Luis
Delfina	Marcos
Dios	Margarita
Edelmira	Maria Luisa B
Edgar Antonio	Maria Luisa O
Elisa	Maria Luisa A
Elvia	Nandini
Fernando	Norma
Gabriel OC	Olga
Gabriel OB	Omar Alejandro
Gabriela Fabiola	Orlando
Gabriela Mariana	Pamela
Guillermo de Jesús	Patricia
Guillermo Gabriel	Rebeca
Homero	Rebeca Zaira
Janet	Sergio
José Luis	Teresa
Karelia	Yasbeth

# ÍNDICE

<b>Resumen</b>	4
<b>1. Introducción</b>	5
<i>1.1 Aspectos generales de la contaminación</i>	5
1.1.1 Contaminación por metales pesados (Cadmio)	7
<i>1.2 Aspectos legales de la contaminación</i>	18
1.2.1 NOM, organismos nacionales, comisión del agua, estadísticas	18
1.2.2 Bioensayos	20
<i>1.3 Aspectos generales de los cladóceros</i>	24
1.3.1 Importancia ecológica, características taxonómicas	27
1.3.2 Importancia de los cladóceros en los bioensayos	27
<b>2. Antecedentes</b>	28
2.1 Bioensayos con <i>Alona</i>	28
2.2 Con cadmio	28
2.3 Con concentraciones de alimento	29
<b>3. Justificación</b>	30
<b>4. Objetivos</b>	31
<b>5. Materiales y métodos</b>	32
<b>6. Resultados y análisis</b>	36
<b>7. Discusión</b>	44
<b>8. Conclusiones</b>	46
<b>9. Bibliografía</b>	47

## RESUMEN

Se realizó un estudio conjunto de parámetros demográficos de tabla de vida y dos diferentes niveles de alimento *Chlorella vulgaris* ( $0.5 \times 10^6$  y  $2 \times 10^6$  células/ml) para evaluar el efecto de seis concentraciones de cloruro de cadmio (0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 y 0.16 mg/l) con el cladócero *Alona glabra*.

Los resultados mostraron que las concentraciones altas de  $\text{CdCl}_2$  repercuten negativamente en cualquiera de las variables de supervivencia o reproducción de *A. glabra*. Las gráficas de supervivencia muestran en general la tendencia del aumento en la mortalidad en todas las concentraciones de tóxico con respecto a los grupos de control. Contundentemente se observa que el nivel alimenticio alto tiene un efecto positivo de al menos de un 50% sobre los niveles bajos de alimento en los valores de supervivencia independientemente del nivel de tóxico.

En las variables reproductivas como fecundidad y tasas de reproducción se observa que los grupos con mayor alimento superan el doble los valores de los grupos con un nivel alimenticio bajo de tal forma que las bajas concentraciones potencian el efecto nocivo del cadmio.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 Aspectos generales de la contaminación**

El agua es uno de los recursos más importantes ya que es utilizado para diversos fines además del consumo humano el uso doméstico, industrial, agricultura, recreación, pesca, hidroeléctricas. Adicionalmente uno de los más importantes objetivos de los programas de manejo del agua es preservar la vida acuática. Para alcanzar este objetivo es necesario mantener con ciertos límites las características químicas del agua, del sustrato, la temperatura, la turbidez entre otros. Cuando las aguas reciben descargas contaminantes ya sea accidental o intencionalmente las características de esta se alteran e incluso pueden exceder los límites tolerados por las especies que lo habitan (Taylor y Francis, 1996).

En la evaluación de la contaminación del agua los estudios de toxicidad son necesarios, ya que las pruebas físicas y químicas no son suficientes para valorar los efectos potenciales de ciertas sustancias sobre la vida acuática. No se puede determinar, por ejemplo, la interacción de los efectos tóxicos de las materias complejas, las diferentes clases de organismos acuáticos no son igualmente susceptibles a las mismas sustancias tóxicas, ni su susceptibilidad es igual a lo largo de su ciclo vital (García, 2002).

Una prueba de toxicidad acuática es un procedimiento en el que se miden las respuestas de los organismos acuáticos y se utiliza para detectar o medir la presencia o el efecto de una o más sustancias, residuos o factores ambientales actuando aisladamente o en combinación. Estas pruebas son útiles para numerosos propósitos, entre los que se incluyen determinaciones de;(a) adaptación de las condiciones ambientales a la vida acuática;(b) factores favorables y desfavorables del ambiente como Disponibilidad de oxígeno, pH, temperatura, salinidad o turbidez; (c) efectos de los factores ambientales sobre la toxicidad de los residuos; (d) toxicidad de los desechos sobre una determinada especie; (e) sensibilidad de los organismos acuáticos ante emanaciones o agentes tóxicos; (f) magnitud que ha de tener el tratamiento de los desechos para cumplir con los requerimientos de control de contaminación del agua; (g) efectividad de estos métodos de tratamiento de desechos; (h) tasa

de descarga de vertidos permitida; (i) concordancia entre las normas de calidad del agua, los condicionamientos a los vertidos y los permisos de descarga (APHA, AWWA, WPF, 1989).

Considerando lo antes mencionado y la necesidad para establecer el control sobre la descarga de sustancias tóxicas a los cuerpos de agua, la estandarización de las pruebas de toxicidad se volvió urgente. El equipo Mexicano (El Instituto de Tecnología del Agua) entonces miembro del Internacional Development Research Centre's Water Tox Network (una red internacional para la estandarización e intercalibración de una batería de métodos de pruebas de toxicidad acuática), tenía una oportunidad para explorar el desarrollo de una batería de bioensayos como una herramienta para monitoreo del agua por contaminación química, adaptable a las necesidades de monitoreo de la toxicidad del agua de países en desarrollo; en los que se incluían bioensayos usando *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* y *Artemia franciscana* como una tecnología alternativa para evaluar la calidad del agua. Dentro de los organismos antes mencionados el Cladóceros *Daphnia magna* es muy importante ya que está establecido en la Norma Oficial Mexicana (NOM-074-ECOL-1994) como un organismo utilizable para la determinación de la calidad de los cuerpos de agua, tanto superficiales, subterráneos, así como aguas residuales, provenientes de los diversos giros industriales, efluentes agrícolas, municipales y sustancias puras, combinadas o lixiviados, mediante pruebas de toxicidad.

La Ecotoxicología estudia los efectos de los contaminantes en el ambiente y su biota. La toxicología acuática es la parte de la ecotoxicología que se encarga del estudio de las sustancias y compuestos extraños presentes en los ecosistemas acuáticos (García, 2002).

El papel de los biólogos en el monitoreo y control de la contaminación acuática consiste en detectar y describir las alteraciones y elucidar el origen de los contaminantes además de buscar entender la relación cuantitativa y cualitativa entre los contaminantes y las consecuencias biológicas. Los biólogos deben de ser capaces de ofrecer propuestas brillantes para el manejo, control o disminución de la contaminación y proponer cambios legislativos (Taylor y Francis, 1996).

### **1.1.1 Contaminación por metales pesados (Cadmio)**

Existen varias definiciones del término “metales pesados”. Por lo general se acepta que son aquellos elementos cuya densidad es mayor a 5 g/ml (Cervantes y Moreno, 1999) Desde épocas remotas, los mexicanos hemos explotado las riquezas mineras de nuestro territorio; de la tierra surgen minerales útiles para las diversas actividades del hombre, y los necesitamos tanto, que pocas veces pensamos que algunos de ellos pueden llegar a ser peligrosos para la salud de la gente que esta expuesta a sus efectos. Con la industrialización, nos hemos familiarizado con elementos tan tóxicos como el plomo, el mercurio, el arsénico y el cadmio (Díaz-Barriga, 1991).

El cadmio se descubrió en 1817 en minerales dezinc, de manera independiente, pero simultánea, por Stromeyer en Göttingen y Hermann en Schöneberg (Albert, 2004). El cadmio generalmente se encuentra en la naturaleza asociado a otros elementos como oxígeno (óxidos de cadmio), cloro (cloruros de cadmio) y azufre (sulfuros de cadmio). En la industria metalúrgica gran parte del cadmio se obtiene como producto secundario de la refinación o fundición del zinc. En México, en el año 2006 se produjeron 1399 ton anuales de cadmio refinado, producción con la que ocupamos el 6° lugar mundial (INEGI, 2007).

El Cadmio se emplea en la actualidad para la fabricación de baterías y acumuladores, cables electrónicos, celdas fotoeléctricas, cloruro de polivinilo, colorantes, fusibles, soldaduras, plásticos, fungicidas, barras para las centrales nucleoelectricas y muchas cosas más como textiles, joyería, vidrio, cerámica, lámparas incandescentes, etc. Como se ve, el cadmio es un metal ampliamente distribuido en muchos ámbitos de nuestra vida diaria y cada día sus aplicaciones se multiplican (Díaz-Barriga, 1991).

En general, las fuentes pueden dividirse en antropogénicas (causadas por el hombre) y naturales. Se estima que el total mundial de cadmio emitido al ambiente en 1983 fue de 9000 toneladas de las cuales el 85% correspondió a fuentes antropogénicas y el resto a fuentes naturales. De estas ultimas, podemos mencionar que las emisiones volcánicas contribuyeron con el 63% del cadmio emitido, las fuentes biogénicas con 18% y los incendios forestales con 8.4%. Si clasificamos las fuentes antropogénicas según el medio que



contaminan, veremos que en el aire 66% del cadmio proviene de la industria metalúrgica y 10% de la combustión del carbón y del petróleo. En el agua, las industrias de los ramos químicos y metal – mecánico proveen 25% del cadmio que llega a ella, el 21% vienen de industrias minero – metalúrgicas, otro 21% lo da la precipitación de material atmosférico (partículas) y finalmente, el 17% llega en el agua residual (urbana o industrial). En el suelo las fuentes más importantes de cadmio son las cenizas de carbón con 13% del total, la precipitación atmosférica con 9%, los desechos mineros – metalúrgicos con 7% y los desechos agrícolas y la excreta de animales con cerca de 5%.

En general existen tres medios por los cuales podríamos exponernos al cadmio: el ocupacional, el ambiental y el tabaquismo. Las ocupaciones mas riesgosas son aquéllas en las que los trabajadores están en contacto directo con el metal, con las fundiciones y en las fábricas de pilas o de acumuladores. La exposición ambiental puede darse por la contaminación del aire, del suelo, o del agua, o por la exposición a alimentos contaminados. El tabaquismo requiere de particular consideración en virtud de que los fumadores inhalan cadmio del que se fija a la planta del tabaco. El tabaco mexicano es uno de los que tiene más cadmio (Díaz-Barriga, 1991).

Para llevar a cabo sus funciones, los organismos vivos requieren de diversos iones inorgánicos esenciales como son: Na, K, Mg, Ca, Cl, SO, PO, NO. Otros iones que también se hallan en el ambiente ya sea tóxicos y sin alguna actividad biológica asociada (por ejemplo, los metales pesados Pb, Hg, Cd, Ag) o bien son esenciales, pero son tóxicos cuando se encuentran en concentraciones relativamente elevadas (tal como Cu, Zn, Ni, Co). Para la mayoría de los organismos es extremadamente tóxica la exposición a un exceso de metales pesados como Cd, Hg, Cr, Ni y Pb. Dentro de la cadena alimenticia, los organismos fotosintéticos son las principales vías de acceso de los metales pesados hacia los animales y el ser humano. El incremento de los valores de los metales pesados en la biosfera, es el resultado de perturbaciones originadas por el hombre en el medio ambiente o por fenómenos geológicos (Cervantes y Moreno, 1999)

En animales acuáticos, el proceso de captación de metales pesados se efectúa mediante tres procesos principales:

- A través de superficies respiratorias como las branquias

- Adsorción del agua a las superficies corporales
- A través del aparato digestivo

En los crustáceos, el proceso de captación se efectúa por adsorción en la superficie corporal (como la cutícula), seguida de difusión a través del epitelio branquial. En las langostas, parece ser más importante la captación a través de la dieta vía estómago o intestino; en el caso de los peces sucede lo mismo. En el camarón de la costa mexicana del Pacífico, el hepatopáncreas es el órgano donde se acumulan con mayor abundancia Cd, Ni, Fe y Zn, mientras que en las branquias se concentra el Cu (Cervantes y Moreno, 1999).

### **Toxicidad de los metales pesados**

La captación y toxicidad de metales pesados en los organismos acuáticos están influidas por factores fisicoquímicos y biológicos, así como por el tiempo de exposición y la concentración del metal o metales. Algunos de los factores que intervienen en la toxicidad de los metales pesados en solución son:

- a) Forma del metal en agua. Soluble o en partículas y como ion, complejo, quelato en forma coloidal, precipitado o absorbido.
- b) Presencia de otros metales. La presencia de otros cationes (sales de Ca y Mg) afecta la toxicidad del Cu, Zn, Cd y Hg, ya sea por precipitación o por competencia.
- c) Factores que modifican la fisiología del organismo. Temperatura, pH, oxígeno disuelto, luz salinidad.

También nutrientes como el fósforo.

Sobre el efecto del pH existen informes contradictorios, por lo que no es posible generalizar acerca de una mayor toxicidad al aumentar o disminuir su valor.

- d) Otros factores ambientales. Tal como la densidad de la población que, por ejemplo en microalgas y protozoarios, al aumentar disminuye la toxicidad del metal, o la edad del cultivo: la toxicidad es mayor en la fase logarítmica de crecimiento que en la fase estacionaria.

Por la contaminación por metales pesados también se altera la composición de las poblaciones de un ecosistema, ya que cada especie responde de diferente manera a las concentraciones de contaminantes y por tanto acumula en mayor o menor medida determinados metales pesados. En

general, desaparecen muchas especies, conduciendo a que predominen aquellas que son resistentes a los agentes contaminantes (Cervantes y Moreno, 1999).

La variabilidad de respuestas de los organismos por intervención de los factores fisicoquímicos ya descritos dificulta la explicación de los mecanismos para los efectos observados y dificulta también la determinación de concentraciones letales o subletales de los metales pesados. A pesar de estas circunstancias, se han determinado los valores límite de concentración letal para metales pesados (Cd, Cr, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn) en varias clases de organismos marinos como peces, crustáceos, moluscos, poliquetos y equinodermos; así como en diversas especies de peces, crustáceos, insectos, gastrópodos y en otros moluscos, oligoquetos y rotíferos de agua dulce.

Los efectos subletales de los metales pesados, en una gran variedad de organismos, conducen a cambios en su morfología o histología; fisiología (crecimiento, desarrollo, capacidad de nado, respiración y circulación); bioquímica (química sanguínea, actividades enzimáticas); y endocrinología, conducta y reproducción.

Los efectos tóxicos de los metales pesados a nivel celular y molecular se relacionan principalmente con su interacción con los grupos sulfhidrilos de las proteínas, su acción ionoforética, la cual impide el mantenimiento de los gradientes iónicos y con su capacidad para generar radicales libres. A nivel subcelular, los principales sitios de acción de los metales pesados son los mitocondrias, la membrana plasmática y el citoesqueleto. Varios metales pesados, en particular Cr (VI), Ni, Co, Cd, As (III) y Pb. Son carcinogénicos para el humano y otros mamíferos, pero no son mutagénicos en las bacterias, tal vez por el desarrollo de mecanismos de resistencia muy eficientes en los procariontes. La genotoxicidad de los metales pesados se relaciona con la inducción del daño oxidativo de DNA y con la inhibición de los procesos de reparación del DNA.

Es importante puntualizar que la mayor parte de la información toxicológica acerca de los metales pesados se ha obtenido a partir de estudios que han utilizado un solo metal, cuando en la realidad los seres vivos están expuestos a mezclas de ellos.

Así, por ejemplo, la toxicidad de la mezcla tal vez difiera de la toxicidad de sus componentes, como ocurre con la mezcla de As y Cd. Por consiguiente, no debe perderse la perspectiva de una exposición a mezclas y su implicación toxicológica cuando se plantea la información individual de cada metal, como a continuación se hace con algunos de los metales y metaloides más tóxicos (Cervantes y Moreno, 1999).

El Cd interactúa con monómeros de fosfatidietanolamina y fosfatidilserina con mayor afinidad que el Ca y el Na, y estas interacciones son una parte de la base bioquímica que explica los efectos tóxicos del Cd en las membranas biológicas. La otra parte importante del efecto tóxico del Cd sobre la función celular es su interacción con los grupos SH de proteínas y otras biomoléculas. Por ejemplo, a una concentración de 5  $\mu\text{M}$  (0.562 ppm), el Cd puede inhibir por completo la fosforilación asociada con la oxidación *in vivo e in vitro* de succinato o citrato en mitocondrias de hígado de rata. El EDTA, los ditioles y otros metales como Mn, Co y Ni, pueden revertir esta acción, lo cual indica una fuerte interacción del Cd con los grupos SH de las enzimas mitocondriales. Asimismo, se ha comunicado de la inhibición de la respiración mitocondrial por Cd en los macrófagos alveolares pulmonares. Tanto el Cd como el Zn estimulan la acumulación dependiente de energía del Mg y el K en las mitocondrias del corazón. La entrada de Cd en células hepáticas es antagonizada por la presencia de Cu, Zn y Hg.

El Cd puede inhibir o estimular el crecimiento de ciertos microorganismos; por ejemplo, este metal puede inhibir el desarrollo de virus del mosaico del tabaco, mientras que bajas concentraciones de Cd pueden estimular el crecimiento del alga verde *Chlorella*, pero ocurre lo contrario cuando las concentraciones son altas. En estudios realizados con cepas de bacterias del género *Bacillus* resistentes y sensibles a Cd, se ha observado que las cepas sensibles acumulan casi 10 veces más Cd que las resistentes, luego de cuatro horas de exposición a 1 mg/ml (8.9 mM) del metal. Al parecer las algas y las cianobacterias son los organismos más sensibles al Cd. Mientras que las bacterias y los hongos tal vez sean los más resistentes. En las bacterias se ha encontrado que la captación de Cd se relaciona con la presencia de plásmidos. La toxicidad del Cd también se relaciona con la

generación de radicales libres y la activación parcial de la calmodulina como análogo del  $\text{Ca}^{2+}$ .

En humanos y animales experimentales la exposición crónica al Cd causa daño renal y proteinuria. La mayor acumulación corporal de Cd ocurre en el hígado y el riñón, pero también en el cerebro fetal. En las ratas y ratones induce también hipertensión, pero en humanos no es así. En ratones se ha comunicado del desarrollo experimental de edema, enfisema y fibrosis pulmonar por inhalación de  $\text{CdCl}_2$ . En roedores expuestos a Cd y Hg se ha observado un incremento en la peroxidación de lípidos hepáticos, en donde el Cd es un inductor más potente que el Hg. (Cervantes y Moreno, 1999). Al igual que para el Pb. el  $\text{CdCl}_2$  muestra una mayor toxicidad aguda en animales machos que en hembras (Cervantes y Moreno, 1999).

En humanos la absorción del cadmio ocurre generalmente a través de +dos vías: la primera de ellas es la oral, por ingestión de agua y alimentos que contengan el metal, y representa aproximadamente el 5% del total del cadmio absorbido en el organismo. Esta proporción depende de la ingestión de proteínas y la presencia de vitamina D y de algunos factores nutricionales y fisiopatológicos del individuo. Por ejemplo, en personas con bajas reservas de hierro o con problemas de eliminación fecal, la proporción de cadmio que se absorbe es mayor. Otros factores que afectan la absorción del cadmio ingerido incluyen el tipo de compuesto, la cantidad ingerida y su frecuencia, la edad, el embarazo o la lactancia, la presencia de drogas y la interacción del cadmio con la concentración en el organismo de algunos nutrientes, como Zn, Se y Ca, con los cuales compite el cadmio.

Con excepción de quienes viven cerca de minas o de industrias refinadoras, los humanos solo absorben una pequeña cantidad de Cd a partir del agua o del aire. En condiciones normales, la concentración de cadmio en los alimentos y el agua es baja y la mayor parte queda retenida en la mucosa intestinal, principalmente unido a la metalotioneína, y es eliminado posteriormente. Sin embargo, cuando la dosis oral de cadmio es elevada, se sobrepasa la capacidad de la metalotioneína para unir el cadmio y el metal libre atraviesa la mucosa para pasar a la circulación sanguínea. Se ha observado que la absorción de metales pesados es mayor en los animales lactantes, posiblemente debido a la acción combinada del efecto de ciertos componentes

de la leche con una mayor permeabilidad de la barrera intestinal en esa etapa, en la que no se ha completado todavía su desarrollo.

La segunda vía en importancia para la absorción de este metal, es la respiratoria. En este caso, la absorción depende del tamaño de las partículas y de su composición química, la concentración del metal en el aire, la retención y de las partículas en los pulmones, las condiciones fisiológicas del sistema respiratorio y en caso de los fumadores, de la intensidad del hábito. La población fumadora es la más expuesta al cadmio, porque los cigarrillos lo contienen en concentraciones que varían dependiendo del sitio de procedencia de la planta y de los fertilizantes que se hayan utilizado en su cultivo.

Después del depósito del cadmio en el árbol respiratorio, parte de las partículas inhaladas pasan al tracto gastrointestinal en donde se absorben parcialmente. Entre 10 al 40% de las partículas inhaladas son absorbidas, otra parte es eliminada con las secreciones y la restante, permanece depositada en el árbol respiratorio. Las partículas que llegan hasta los alvéolos son absorbidas y pasan a la sangre, ya sea directamente, o por vía del macrófago alveolar (Albert, 2004)

A pesar de que dichas fuentes tienen el potencial de afectar a una gran cantidad de personas, aún son escasos los estudios epidemiológicos en poblaciones de alto riesgo. En San Luís Potosí se han efectuado dos estudios: en uno se demostró mayor exposición al Cd en niños vecinos de una zona industrial metalúrgica y en el otro, se demostró que las mujeres no fumadoras de la ciudad de San Luís Potosí, SLP, como ejemplo de ciudad industrial, tuvieron hasta 10 veces más Cd en la placenta que aquellas de una ciudad no industrial. Ambos estudios dan una idea de la importancia que puede tener en México la exposición humana al cadmio y, por lo tanto, esto debería ser un asunto prioritario en materia de salud pública en el país (Cervantes y Moreno, 1999).

### **Tolerancia a los metales pesados.**

Se ha observado que la tolerancia de los seres vivos a los metales pesados se debe a varios mecanismos como son: (1) la unión del metal a la pared celular y a la cara externa de la membrana plasmática con lo cual se impide el paso de éste hacia el interior celular; (2) reducción del transporte a

través de la membrana celular, (3) expulsión activa, por medio de la cual sale mayor cantidad de metal que la que entra; (4) compartimentalización, en que el metal queda secuestrado en un organelo en el interior celular; (5) por acción quelante, ya sea por proteínas o péptidos (metalotioninas o fitoquelatinas), compuestos orgánicos (citrato, malato oxaloacetato) o por compuestos inorgánicos (sulfuro, fosfato, polifosfatos); (6) biotransformación, ya sea por reducción u oxidación del metal o por alquilación; y (7) precipitación y atrapamiento por secreción de compuestos en el medio extracelular. Algunos componentes del sistema de detoxificación en bacterias se conocen con detalle. Por ejemplo, recientemente se reportó la estructura tridimensional de la proteína periplásmica que una  $Hg^{2+}$  (MerP) y lo transfiere a la proteína que lo internaliza (MerT) para volatizarlo enzimáticamente (Cervantes y Moreno, 1999).

Los metales pesados, y los metaloides afines, se encuentran de manera natural en la biosfera y por lo común en bajas concentraciones, 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 y metaloides pueden llegar a ser elevados. En esta última situación, se afectan los organismos y los ecosistemas, y sólo aquellos organismos que desarrollen mecanismos eficaces de resistencia permanecerán en los ambientes alterados por la presencia de los elevados valores de los metales pesados. Así, los metales tóxicos funcionan como agentes selectivos que promueven la predominancia de los organismos tolerantes e inducen la desaparición de los susceptibles.

Aunque son diversos los mecanismos de toxicidad de los metales pesados, los sistemas más comunes implican una interferencia con el transporte y la función de los iones fisiológicos esenciales, y la interacción con las macromoléculas celulares tales como las enzimas y los ácidos nucleicos. También son distintos la especificidad y el grado de toxicidad de los diversos metales pesados, y dependen en gran parte del tipo de organismo afectado. Precisamente, una de las áreas que todavía requiere de mayor investigación es la descripción y la determinación de los efectos tóxicos de los metales pesados en una diversidad más amplia de organismos, principalmente de

cianobacterias, microalgas, protozoarios, invertebrados (anélidos, moluscos, artrópodos, *etcétera*), plantas, animales de interés comercial y poblaciones humanas sometidos a diferentes grados de contaminación por los metales. La cantidad de información disponible, aunque ya permite elaborar algunos esquemas acerca de los efectos generales de los metales pesados, todavía es escasa para lograr inferir su impacto a un nivel más localizado, ya sea en una población en particular o a distintos niveles de complejidad: en los ecosistemas, en los organismos, en los tejidos y órganos, en las células o bien en las estructuras subcelulares (Cervantes y Moreno, 1999).

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, posiblemente desde el mismo origen de los seres vivos. Sin embargo, la conservación de algunos sistemas de resistencia y tolerancia a lo largo del árbol filogenético puede haber resultado de su mayor efectividad para proteger contra los efectos de los metales pesados.

La introducción artificial de metales pesados en ambientes no contaminados representa necesariamente un factor adicional en el desarrollo de los sistemas de resistencia en los organismos expuestos. Debido a que la contaminación por metales pesados en zonas industriales o urbanas es un hecho relativamente reciente, se puede considerar que los organismos presentes en las zonas contaminadas han resultado seleccionados por poseer adecuados sistemas de resistencia a los metales pesados existentes. En consecuencia, la exposición continua a los agentes tóxicos, además de seleccionar a los organismos más resistentes, contribuye a la evolución y a la propagación de los mecanismos de resistencia (Cervantes y Moreno, 1999).

Tiene que hacerse conciencia en los distintos ámbitos relacionados con el problema (gubernamental, académico, comunitario) de que la contaminación por metales pesados, y de hecho por otros agentes tóxicos como son pesticidas, solventes orgánicos e isótopos radiactivos, no va a disminuir ni a permanecer en la situación actual, sino que continuará aumentando en el futuro inmediato y a largo plazo. Esta predicción se basa en el aumento, no en la disminución, de las actividades industriales y mineras a escala mundial. Por lo tanto, es esencial continuar con la investigación de la abundancia de los



metales pesados en los diferentes ecosistemas, de sus efectos tóxicos y de los mecanismos de resistencia desarrollados por los seres vivos, para establecer así con certeza la necesidad de desarrollar y aplicar mejores sistemas de control de la contaminación ambiental, así como continuar generando nuevas estrategias biotecnológicas, o perfeccionando las ya existentes, para abatir la presencia excesiva de los metales pesados en el entorno (Cervantes y Moreno, 1999).

### **Efectos adversos**

Se ha demostrado que los efectos del Cd en la animales experimentales depende n de factores genéticos, etapa de desarrollo, estado funcional del organismo y exposición previa o simultánea a algunos factores ambientales incluyendo algunos nutrientes. La cantidad del metal necesaria para causar un efecto adverso en una persona expuesta depende de su forma química y de las propiedades fisicoquímicas del compuesto. En general, los compuestos solubles en agua y aquellos que pueden disolverse en el organismo tienden a ser más tóxicos. Por ingestión de alimentos o bebidas con altas concentraciones de cadmio, se pueden presentar irritaciones estomacales, náusea, vómito y diarrea, dolor abdominal y muscular, así como salivación.

Los humanos están protegidos contra una exposición crónica de Cd gracias a una proteína rica en Azufre, la metalotioneína, cuya principal función es regular el metabolismo del zinc. Debido a que esta proteína posee varios grupos sulfhidrilo, puede formar complejos con el  $Cd^{2+}$  absorbido, el cual es eliminado subsecuentemente con la orina. Como ya se dijo, si la cantidad del metal que ingresa al organismo excede la capacidad de la metalotioneína, el Cd se almacena en el hígado y riñón donde puede causar enfermedades. La placenta sintetiza metalotioneína, por lo que es una barrera parcialmente eficaz contra el cadmio, pero no es posible descartar que se puedan transmitir concentraciones nocivas de este metal de madre a hijo antes del nacimiento. Por otra parte, los recién nacidos están expuestos a otras fuentes del metal, como la leche materna (Albert, 2004).

*Efectos renales.* Independientemente de la vía de absorción, el riñón es el principal órgano crítico para el cadmio. La exposición a largo plazo a concentraciones bajas de Cd causa los efectos mas graves; en los expuestos

se observa daño renal con proteinuria tubular (excreción de proteínas con bajo peso molecular como la microglobulina) y disminución en la tasa de filtración glomerular cuyo resultado es la reabsorción disminuída de aminoácidos, glucosa, calcio, cobre, y fosfato inorgánico. Otros síntomas son la anemia y aumento en la velocidad de sedimentación de los eritrocitos, astenia, glicosuria, hiperfosfaturia, aumento en la excreción de ácido úrico y excreción de proteínas de alto peso molecular. En etapas avanzadas de intoxicación puede un aumento en la excreción de aminoácidos y Ca en la orina, lo cual puede causar la formación de cálculos renales. La proteinuria persiste aunque cese la exposición y la disfunción tubular y la reducción en la filtración glomerular se incrementa severamente. Aunque el daño inicial es sobre los túbulos renales, eventualmente se afectan los glomérulos. Este daño se debe a la incapacidad del organismo para eliminar el cadmio que llega al riñón, el cual se acumula en la corteza renal. En la ingestión prolongada de alimentos con alto contenido de cadmio, se han observado osteopatías que parecen estar relacionadas con una alteración del metabolismo del calcio.

*Efectos respiratorios.* Se observan como resultado de la exposición ocupacional al cadmio y sus compuestos por vía respiratoria, pero son muy poco probables en la población general. La sintomatología comienza con irritación faríngea y broncopulmonar con disnea, opresión retroesternal y tos. Si la exposición ha sido importante, se puede llegar a insuficiencia respiratoria aguda, e incluso, a edema agudo. La inhalación de humos o polvo de óxido de cadmio es intensamente irritante para el sistema respiratorio; las exposiciones agudas pueden ser fatales. La exposición crónica de tipo ocupacional a concentraciones de cadmio o sus derivados en el aire puede causar enfisema y fibrosis pulmonar progresiva, neumonitis y edema pulmonar.

*Efectos sobre la reproducción.* Experimentalmente animales que han sido expuestos a cadmio vía inhalatoria induce productos con bajo peso al nacer, malformaciones esqueléticas, interferencias con el metabolismo fetal y desarrollo neurológico afectado. También se han observado experimentalmente cambios en la función testicular cuando el cadmio se administra por vía oral, así como necrosis testicular o efectos sobre los niveles de hormonas sexuales en los machos. No se tienen datos suficientes sobre estos efectos en los seres humanos (Albert, 2004).

*Efectos sobre el sistema cardiovascular.* Se ha sugerido que el cadmio pueda estar relacionado con el desarrollo de presión sanguínea elevada y enfermedad cardíaca.

*Efectos carcinogénicos.* La EPA ha clasificado al cadmio como probable carcinógeno humano. Induce a la formación de neoplasias en riñón, hígado, estómago, próstata y páncreas. Se desconoce el mecanismo de la inducción tumoral, pero se sabe que el cadmio produce estrés oxidativo en las células, así como interacciones ADN/metal (Albert, 2004).

## **1.2 Aspectos legales de la contaminación**

### **1.2.1 Normas Oficiales Mexicanas, organismos internacionales, comisión del agua, estadísticas.**

En 1994, el gobierno de México adoptó una legislación concerniente a los máximos puntos-fuente de niveles de descarga de contaminantes para proteger las aguas de captación. Esta ley Federal especifica pautas para tóxicos orgánicos e inorgánicos de 28 sectores industriales y métodos analíticos para ser usados en determinar sus concentraciones. Este fue el primer paso de México para proteger sus recursos acuíferos mientras que al mismo tiempo cumplía con los requerimientos legales impuestos por el Tratado de Libre Comercio (INE 1994; Pica-Granados *et al.*, 2000).

Las Normas Oficiales Mexicanas enlistan las sustancias que pueden ser consideradas contaminantes y los niveles máximos permitidos. Para evaluar los niveles se tienen que hacer pruebas de laboratorio o bioensayos -pruebas con organismos indicadores de polución-. La NOM-074-ECOL-1994 establece al cladócero *Daphnia magna* como un organismo para determinar la calidad del agua, sin embargo este no se encuentra en cuerpos de agua mexicanos, de ahí surge la necesidad de encontrar especies nativas como *Alona glabra* para evaluar contaminantes. El objetivo de este trabajo consiste en evaluar algunos aspectos de vida del cladócero *Alona glabra* con el tóxico Cadmio en diferentes concentraciones.

La protección del agua sufrió un severo retraso bajo nuevas regulaciones de 1997 en las cuales:

Los compuestos tóxicos orgánicos no se incluían, basados en el personal capacitado para realizar las pruebas era limitada y los fondos para capacitarlos no estaban disponibles.

Los bioensayos se declararon como pruebas opcionales a pesar de su aceptación como herramienta indispensable en análisis de riesgo y su bajo costo. Aquí el argumento fue que este método no había sido estandarizado y la información concerniente a su repetibilidad y reproducibilidad no estaba disponible.

El criterio de la calidad de agua para desechos industriales se refería sólo a siete metales pesados y algunos parámetros físico-químicos incluyendo pH, sólidos suspendidos y disueltos, sólidos precipitados, contenido orgánico, contenido de grasa y aceite, y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO). Los niveles máximos permisibles fueron aquellos generalmente adoptados para aguas de desecho delicadas (Diario Oficial, 1997)

Concentraciones máximas **permisibles** en el agua potable de México (ver Tabla 1) (Cervantes y Moreno, 1999).

Tabla 1 Concentraciones máximas permisibles en el agua potable de México

<b>Metal</b>	<b>Límite permisible (mg/l o ppm)</b>
Zinc	5.0
Cobre	2.0
Aluminio	0.9
Como total	0.05
Arsénico	0.05
Plomo	0.025
Cadmio	0.005
Mercurio	0.001

### **1.2.2 Bioensayos**

En el campo de la toxicología y la ecotoxicología es necesario determinar el efecto que produce uno o varios compuestos químicos (tóxicos) a los individuos de una determinada especie; así como su capacidad de acumulación en los tejidos vivos y, en general, su comportamiento en el compartimiento biótico del ecosistema. Los experimentos diseñados para este fin son los denominados bioensayos. La FAO define el término bioensayo como: <<tests en los cuales un tejido vivo, organismo o grupo de organismos, se usan como reactivos para la determinación de la potencia de alguna sustancia activa fisiológicamente>> (Serrano, 2003).

Este tipo de experimentos se pueden utilizar para determinar la toxicidad de contaminantes para diferentes especies de organismos, registrando la mortalidad que producen, u otros efectos no letales (subletales) que ponen en peligro la supervivencia de los individuos o de las poblaciones en el medio natural, como por ejemplo efectos negativos sobre el comportamiento, la reproducción o el metabolismo.

En un sentido más amplio, los bioensayos incluyen también pruebas de acumulación de los tóxicos en los organismos, diferenciándose entre las diferentes vías de entrada de los xenobióticos. Mientras que los animales terrestres acumulan contaminantes principalmente a través del alimento, en el medio acuático se pueden distinguir tres procesos bien diferenciados: bioconcentración, bioacumulación y biomagnificación.

La bioconcentración es el proceso por el que un compuesto entra en un organismo acuático directamente desde el agua a través de las agallas o de los tejidos epiteliales como consecuencia de un simple equilibrio químico de partición entre los tejidos y el agua. La bioacumulación incluye tanto la bioconcentración como los procesos de entrada de residuos químicos a través de la comida. Por su parte, la biomagnificación hace referencia a la totalidad de procesos por los cuales la concentración tisular de un compuesto químico bioacumulado se incrementa a medida que este material pasa a través de dos o más niveles tróficos (Serrano, 2003).

Los bioensayos utilizados en ecotoxicología acuática se clasifican, en función de su duración y del método que se emplea para añadir el tóxico al agua, de la siguiente manera:

- **Test a corto plazo:** el período de tiempo oscila entre 48 y 96 horas dependiendo de la especie utilizada y normalmente no se suministra comida a los organismos de experimentación; la gran ventaja de este tipo de bioensayos es la rapidez de los resultados.
- **Test a largo plazo:** su duración oscila entre 7 días y uno o varios meses, su duración dependerá del ciclo de vida de la especie utilizada; la ventaja que presenta frente a los anteriores es su mayor *fiabilidad*.
- **Test estático:** son bioensayos generalmente de corta duración en los que los organismos están durante todo el período de experimentación en el mismo medio.
- **Test de renovación o estático con renovación:** en este tipo de bioensayo el medio se renueva periódicamente.
- **Test de flujo:** es el más sofisticado, ya que el medio se va renovando continuamente mediante sistemas de circulación y dosificación automática (Serrano, 2003).

Diferentes organismos internacionales tales como la OECD, la ASTM o la USEPA han emitido una serie de recomendaciones para la realización de este tipo de ensayos con el fin de conseguir que los resultados de éstos sean comparables, es decir una estandarización de los parámetros que se obtengan.

Esta es una tarea ardua debido a la complejidad de los ensayos como consecuencia de las variables que intervienen. En general, las recomendaciones van encaminadas a la definición inequívoca de los diferentes parámetros toxicocinéticos y a evitar determinaciones erróneas de éstos como consecuencia del amplio rango de diferentes propiedades físico-químicas que presentan los contaminantes por ejemplo solubilidades y polaridades (Serrano, 2003).

Dependiendo de la investigación que se lleve a cabo con microorganismos o en el medio acuático el tóxico se puede añadir al medio de

cultivo o al agua, en una concentración conocida (concentración nominal). En el diseño del experimento se deberán tener en cuenta los siguientes puntos.

a) **Selección y determinación de la condición de los organismos**

Se deben evitar cambios bruscos en las condiciones ambientales o dañar a los organismos durante su manipulación, ya que ambos factores pueden provocar el descarte de la población para posteriores experimentos.

b) **Réplicas**

Se deben realizar tres réplicas de cada tratamiento (dosis de tóxico), lo que permitirá un tratamiento estadístico adecuado.

El número de individuos por grupo (por réplica) dependerá de las limitaciones impuestas por las características de los organismos a estudiar. Por ejemplo, de 20 en el caso de especies como (poliquetos, anfípodos, etc.)

c) **Determinación del efecto**

En la mayoría de los casos se determinará la mortalidad o algún efecto subletal, dependiendo del objetivo del estudio.

En la mayoría de las especies es fácil reconocer la muerte de un individuo. Sin embargo, en moluscos, poliquetos o algunos crustáceos inferiores se deben buscar maneras de constatarla.

d) **Controles**

En cualquier experiencia de tipo ecotoxicológico los grupos control, es decir, grupos de organismos no expuestos o tratados con el tóxico, son fundamentales para asegurar que el experimento se ha llevado a cabo correctamente.

e) **Finalización del experimento**

Una vez registradas las observaciones en cada grupo, los datos serán tratados para el cálculo los diferentes parámetros ecotoxicológicos.

## **Tratamiento de datos**

### *Cálculo de la relación dosis/efecto*

El parámetro que se utiliza más ampliamente para medir la toxicidad de un compuesto para una especie determinada es la LD 50 (*lethal dose*50), es decir, la dosis que produce la muerte o causan un efecto subletal determinando

para el 50% de la población sometida a tratamiento en un periodo de tiempo determinado.

En el caso de estudios en el medio acuático, el parámetro que se utiliza es la LC o EC 50, análogo a los anteriores pero haciendo referencia a la concentración del tóxico presente en el agua (*lethal concentration o effective concentration*) en lugar de a la dosis suministrada. Así, la LC 50-96 h sería la concentración de tóxico disuelto en el agua capaz de causar la muerte al 50% de la población después de 96 h.

Existen diferentes métodos para el cálculo de la LD; dos de ellos, el método gráfico y el logarítmico, no necesitan de ordenador. El método de los *probits* es el que se usa más ampliamente en la actualidad.

El *método gráfico* consiste en representar en el eje de abscisas las dosis suministradas a los diferentes grupos y en el eje de ordenadas el porcentaje de mortalidad, interpolando el valor de concentración que se corresponde con el 50% de mortalidad a partir de la línea que une a los diferentes puntos. Para cada réplica se obtiene un valor que se utiliza para calcular la media.

El *método logarítmico* es una variante de éste en el que la gráfica se representa en papel semilogarítmico; de esta manera se representa la concentración en escala logarítmica en el eje de ordenadas, minimizando la incertidumbre en la zona central (50%) de la gráfica.

#### *Método de los probit*

La transformación *probit* se utiliza habitualmente en el estudio de las distribuciones de frecuencia. En el caso de la determinación de la LD 50 a partir de datos sobre mortalidad, la transformación *probit* da mayor peso a los datos obtenidos a partir de los tratamientos con dosis o concentraciones centrales que a los valores extremos, minimizando de esta manera la incertidumbre en la zona central de la gráfica donde, como hemos visto en los métodos anteriores, se interpola el valor de la LD 50 (Serrano, 2003).



### **1.3 Aspectos generales de los cladóceros**

#### **1.3.1 Importancia ecológica, características taxonómicas**

Las pulgas de agua (suborden Cladóceras) constituyen la mitad de los braquiópodos e incluyen a muchas especies comunes y ampliamente extendidas, como las pertenecientes al género *Daphnia*. El caparazón encierra al tronco, pero no a la cabeza y suele terminar posteriormente en una espina apical. La cabeza tiene un saliente ventral, algo dirigido hacia atrás, de modo que el cuerpo tiene el aspecto de un pájaro gordo. El número de apéndices troncales está reducido a cinco o seis pares. La punta del tronco, normalmente llamada postabdomen, está girada centralmente hacia delante y lleva una especie de garras y espinas para limpiar el caparazón. La mayoría de los braquiópodos sólo mide unos pocos centímetros de longitud, algunos sólo 0.25 mm. La mayoría de los braquiópodos son pálidos y transparentes, los cladóceros habitan los arroyos, estanques grandes y lagos. La mayor parte de las especies son muy efímeras y sólo aparecen brevemente durante la corta existencia de las charcas formadas por la nieve derretida o las lluvias primaverales (Ruppert y Barnes, 1996). Estos organismos constituyen un grupo ampliamente distribuido. Se pueden encontrar desde el Ártico hasta latitudes tropicales, habitando en mares, lagos, ríos, arroyos, estanques, charcos, e inclusive se han encontrado en agua atrapada en musgos que cuelgan de árboles. Tienen un extenso intervalo de tolerancia a la salinidad, pudiendo vivir en aguas casi destiladas, aguas oceánicas con 3.2‰ de salinidad y hasta en lagos aún más salinos que el agua de mar con un 5‰ o más de salinidad. Además pueden vivir en aguas duras o suaves con menos de 20mg/L de calcio y toleran un pH ácido de hasta 3.8 (Hutchinson, 1967; Dodson & Frey, 1991).

Las pulgas de agua nadan por medio de segundas antenas poderosas. El movimiento es en gran parte vertical y normalmente a trompicones. El batido hacia debajo de la antena lanza al animal hacia arriba de la antena lanza al animal hacia arriba; luego se va hundiendo lentamente, utilizando las antenas a modo de paracaídas.

La mayoría de los braquiópodos son suspensívoros y recogen las partículas de alimento con las finas sedas de los apéndices del tronco. En los

cladóceros, sólo algunos de los cuatro a seis apéndices del tronco están adaptados para recolectar partículas, y las sedas filtradoras suelen estar dispuestas en el apéndice formando un peine diferenciado. La corriente de agua para desde el lado anterior al posterior, y las partículas recolectadas son transferidas al surco alimentario por medio de sedas especiales (gnatobases) situadas en la parte basal de los apéndices. La eficacia del mecanismo recolector de *Daphnia* se hace patente por la capacidad de algunos miembros de este género para alimentarse a base de bacterias (Ruppert y Barnes, 1996).

Dichos organismos pueden alimentarse de una gran variedad de pequeñas partículas tales como bacterias, algas, protozoos, rotíferos, cladóceros y pequeños crustáceos. Ellos obtienen su alimento filtrando el agua, en el caso de los herbívoros, o atrapando a su presa y succionando los fluidos corporales o aún comiendo enteras a sus presas en el caso de los planctívoros (Dodson & Frey, 1991; Ruppert & Barnes, 1996).

La importancia de los cladóceros en los cuerpos de agua radica principalmente en que forman parte importante de la cadena alimentaria (Zou, 1996), formando el eslabón entre los productores primarios (fitoplancton) y los consumidores secundarios (planctívoros) (García, 2002).

Aunque también existen cladóceros planctívoros, lo que los convierte en los principales consumidores primarios y secundarios de los lagos. También son importantes porque regulan la cantidad de algas y bacterias contenidas en un cuerpo de agua (Dodson & Frey, 1991).

El cladóceros seleccionado para este estudio fue *Alona glabra* pertenece al orden Anomopoda y a la familia Chydoridae y presenta la morfología que se muestra en la Figura 1

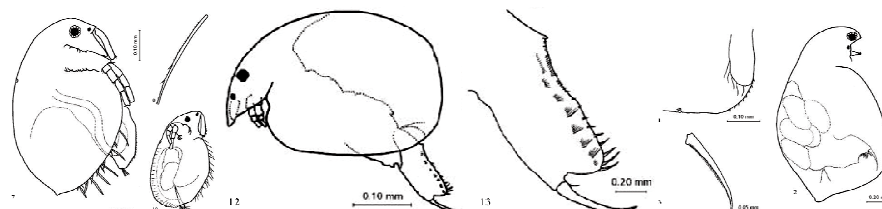


Figura 1 Morfología de *Alona glabra* tomado de Elmoor-Loureiro *et al.*

## Reproducción y desarrollo

En los cladóceros, el patrón de reproducción es de partenogénesis cíclico. Los huevos diploides partenogenéticos eclosionan en forma de hembras durante muchas generaciones, y una hembra puede producir una sucesión de incubaciones.

El desarrollo es directo, y cuando los juveniles abandonan la cámara de incubación situada debajo del caparazón, el esqueleto muda y una nueva hornada de huevos es expulsada a la cámara incubadora. El cambio de una camada a la siguiente puede tener lugar en 5 min. En algún momento, determinados factores, como puedan ser cambios en la temperatura del agua o un descenso de la disponibilidad de alimento debida a un aumento de la población, inducen a la aparición de machos, y se producen huevos fecundados. Los huevos fecundados son grandes y sólo se producen dos en una sola puesta, uno de cada ovario. Las paredes de la cámara incubadora están ahora transformadas en una cápsula protectora en forma de estribo (ephippium o efipio). Este es eliminado en la siguiente muda, separándose o permaneciendo unido al resto del exoesqueleto.

Los efipios flotan, se hunden hasta el fondo o se adhieren a objetos, y pueden soportar la desecación y el congelamiento e incluso resistir al paso por el tubo digestivo de peces y de las aves y mamíferos que se alimentan de éstos. Por medio de estos huevos protegidos tan resistentes, los cladóceros pueden ser dispersados por el viento o por animales a través de distancia considerables, y pueden pasar el invierno y sobrevivir a las sequías estivales.

Algunos cladóceros, como especies de *Diaphanosoma*, *Moina* y *Chydorus*, pueden exhibir un único ascenso y caída poblacionales durante los meses más cálidos, mientras que otras son dicíclicas y exhiben picos poblacionales tanto de primavera como de otoño. El fenómeno no es de ningún modo predecible en todos los casos. Algunas especies de *Daphnia* por ejemplo, pueden ser monocíclicas, dicíclicas o incluso acíclicas, dependiendo del lago o estanque en el que vivan.

En algunas especies de cladóceros, como las lacustres *Daphnia dubia* y *Daphnia retrocurva*, la cabeza cambia progresivamente de una forma redonda a una de casco entre la primavera y mediados de la verano a otoño, la cabeza vuelve a su forma normal redonda. Esta ciclomorfosis no se comprende muy

bien aún. Puede ser, al igual que en los rotíferos, el resultado de factores internos, o de la interacción de condiciones externas (temperatura) y factores internos (quizá genéticos). En algunas especies al menos, parece reducir la prelación al producir un tamaño menos aceptable para determinados predadores (Ruppert y Barnes, 1996).

Actualmente existe información de los cladóceros en diversos aspectos como: características anatómicas externas e internas, morfología funcional, fisiología adaptaciones fisiológicas, evolución, ciclo de vida, especiación, distribución comportamiento ecológico, relaciones ecológicas, regulación de la población, rol funcional en el ecosistema, acuicultura y ecotoxicología entre otras (Dodson & Frey, 1991; Ruppert & Barnes, 1996). Toda esta información disponible hace que sea posible comparar su comportamiento en situaciones normales y bajo algún tipo de estrés.

### **1.3.2 Importancia de los cladóceros en los bioensayos**

Los Cladóceros han sido usados para bioensayos desde hace 50 años por Naumman (Dodson & Frey, 1991). Los cladóceros son usados extensamente en bioensayos de toxicidad aguda y crónica como organismos de prueba para cuantificar la toxicidad de efluentes de solo un compuesto y mezclas complejas y además es un indicador biológico en efluentes que reciben los ecosistemas acuáticos. El realizar este tipo de estudios ecotoxicológicos con cladóceros representa muchas ventajas, ya que las pruebas con estos organismos son rápidas debido a su ciclo de vida tan corto, son muy económicos de mantener y su tamaño es pequeño. Estas características permiten que sea más fácil trabajar con ellos, además su reproducción es por partenogénesis por lo que conservan sus características genéticas, alcanzan la madurez sexual en un tiempo muy corto y se cuenta con progenie muy pronto. Tienen una amplia distribución, alta significancia ecológica y son muy vulnerables a la contaminación por metales pesados (Zou, 1997).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Bioensayos con *Alona*

Nandini y Sarma en 2002 realizaron un estudio de crecimiento poblacional con algunos géneros de cladóceros (entre ellos *Alona glabra*) en relación con diferentes niveles alimenticios de *Chlorella vulgaris*.

### 2.2 Con Cadmio

Sick y Baptist en 1979 expusieron al copepodo marino *Pseudodiaptomus cosonatus* a alimento con cadmio añadido y a concentraciones de cadmio en el agua del medio y encontraron después de analizar por espectrofotometria de absorción atómica que *P. coronatus* absorbió mayores cantidades del medio que del alimento.

Villarreal-Treviño *et al.* en 1986 encontraron que metales pesados (como Pb, Cu, Zn y Fe) se encontraban en concentraciones mayores en peces dulceacuícolas –*v. gr.: Poecilia formosa* y *Cichlasoma cyanoguttatum*– que los ríos donde vivían esto debido a la bioacumulación y biomagnificación. Estos metales alteran o incluso modifican funciones esenciales en los peces, tal como alteraciones reproductivas.

McIntosh en 1991 menciona que es de suma importancia la medición de metales pesados en los sedimentos de los cuerpos de agua ya que la mayor parte de las mediciones, bioensayos se centran en la parte superficial de la columna de agua.

Fargasova en 1994 evalúa el efecto tóxico de metales pesados –Hg, Cr, Cd, Pb y As– sobre dos especies dulceacuícolas –*Daphna magna* y *Tubifex tubifex*– que forman parte importante del plancton y que se encuentran ampliamente distribuidas.

Wogram J. y Liess M. en 2001 comparan la sensibilidad a diferentes tóxicos entre ellos al Cadmio e indican que un requisito de los organismos usados en bioensayos es que presenten gran sensibilidad a el estresor químico

a evaluar. De aquí la gran importancia probar la sensibilidad de diferentes especies a los tóxicos.

Gama-Flores *et al.* en 2007 cuantificaron la respuesta de *Moina macrocopa* siendo expuesta a diferentes concentraciones de cadmio en un estudio de tabla de vida, encontrando que las concentraciones altas del tóxico tienen un impacto negativo sobre los parámetros de supervivencia y reproducción.

### **2.3 Con concentraciones de alimento**

Martínez-Jerónimo y Gutiérrez-Valdivia en 1991 evaluaron la fecundidad, reproducción y crecimiento de un cladóceros –*Moina macrocopa*- con distintas concentraciones de tres especies de microalgas -*Ankistrodesmus convolutus*, *Scenedesmus incrassatulus* y *Chlorella vulgaris*- .

Martínez-Jerónimo y García-González en 1994 basados en un estudio de tabla de vida encontraron que la concentración de alimento -microalga *Scenedesmus incrassatulus*- modifica la respuesta del cladóceros *Daphna magna* al tóxico Sulfato Dodecil de Sodio.

Martínez-Jerónimo *et al.* en 1994 trabajaron el efecto de dos alimentos - *Ankistrodesmus falcatus* y *Scenedesmus incrassatulus*- en diferentes concentraciones (6, 12 y 18 mg/l) sobre la sobrevivencia, longevidad y reproducción de *Daphna magna*.

Nandini y Sarma en los años 2000 y 2002 realizaron estudios de Tabla de Vida y de Crecimiento Poblacional respectivamente de cladóceros en relación al nivel alimenticio del alga *Chlorella vulgaris*.

Muro-Cruz, Nandini y Sarma en 2002 realizaron estudios demográficos en dos especies de cladóceros *Alona glabra* y *Macrothrix triserialis* en relación a diferentes niveles alimenticios de *Chlorella*.

### 3. JUSTIFICACION

La creciente presencia de cadmio en el ambiente se hace patente debido a que México ocupó en el año 2006 según el INEGI el 6° lugar mundial en producción de cadmio; por este motivo es necesario evaluar los efectos que provoca en los organismos nativos de México. La legislación mexicana permite evaluar la contaminación con *Daphnia magna* sin embargo esta especie no habita el territorio nacional, de aquí la importancia en realizar estudios con diferentes especies de cládoceros para encontrar una que se adapte a la realidad mexicana. Este estudio está diseñado con *Alona glabra* que se encuentra distribuida en México, bajo los efectos conjuntos del  $\text{CdCl}_2$  y *Chlorella vulgaris* analizando variables demográficas de tabla de vida.

## 4. OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto conjunto de alimento *Chlorella vulgaris* y el tóxico cloruro de cadmio sobre variables demográficas de tabla de vida en el cladóceros *Alona glabra*.

### Objetivos particulares:

1. Cuantificar el efecto agudo del cloruro de cadmio con *Alona glabra*.
2. Cuantificar el efecto crónico del tóxico sobre variables demográficas en el cladóceros *A. glabra*.
3. Cuantificar el efecto conjunto del tóxico y niveles alimenticios sobre variables demográficas en el cladóceros *A. glabra*.



## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### Cultivo de organismos

#### *Chlorella vulgaris*

Esta microalga de la división Chlorophyta, clase Chlorophyceae, orden Chlorococcales, familia Chlorococcaceae es una especie común en los cuerpos de agua del Valle de México e incluso en la atmósfera (Vega-Quintero, 1996). Fue aislada de la FES Iztacala y se cultivó en envases de plástico de 2 l de capacidad con 30 ml de medio Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1988), 0.5 g de  $\text{NaHCO}_3$  y con agua destilada, se mantuvieron aereados los cultivos con ayuda de una bomba de aire y con iluminación artificial constante, o bien, con un fotoperiodo de 24 h luz, como fuente adicional de carbono cada dos días se les agregaba 0.5 g de  $\text{NaHCO}_3$ . Después de alcanzar su máximo crecimiento poblacional fueron retiradas y colocadas en un cuarto frío a una temperatura de 4°C. Una vez sedimentadas las algas, se decantaron las botellas para concentrarlas en una sola, posteriormente se hizo un conteo con la cámara Neubauer para conocer la densidad del alga.

#### *Alona glabra*

Este cladóceros fue recolectado en la orilla del lago Chapultepec y cultivado en Laboratorio de Zoología Acuática (UMF) de la FES Iztacala UNAM. Las condiciones para su reproducción y desarrollo en laboratorio fueron usando una solución o medio EPA, (96 mg/l de  $\text{NaHCO}_3$ , 60 mg/l de  $\text{MgSO}_4$ , 60 mg/l de  $\text{CaSO}_4$  y 4 mg/l de KCl), el pH de la solución es de 7.5. Como alimento se usó *Chlorella vulgaris* administrándolo diariamente de tal forma que los organismos dispusieran de alimento *ad libitum*. Los cultivos se mantenían en recipientes de cristal a una temperatura de 27-28°C con un fotoperiodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

## Pruebas de toxicidad

### Tóxico

El CdCl<sub>2</sub> se preparó formando una solución madre cuya concentración era de 1000 mg/l. La solución se conservaba en un matraz volumétrico con tapa marca Pyrex y cubierto en su parte exterior con aluminio para evitar la fotodegradación a una temperatura de 4°C en refrigeración. Las diferentes concentraciones de tóxico para las distintas pruebas se hicieron con diluciones seriales.

### Toxicidad aguda

Es el estudio que se realizó para conocer la mortalidad de los individuos a tiempos de exposición definidos con concentraciones de tóxico determinadas. La mortalidad media o del 50 % de los organismos después de ser expuestos a distintas concentraciones de tóxico durante 24 h se conoce como Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>). El experimento consistió en exponer a 20 organismos neonatos con menos de 12 horas de vida de en recipientes de vidrio de 100 ml de capacidad con 50 ml de medio EPA con 0.5x10<sup>6</sup> células/ml de *Chlorella* y seis concentraciones diferentes de tóxico y un grupo control con EPA y *Chlorella* solamente. Cada tratamiento con cuatro repeticiones (ver Tabla 2). Los organismos vivos se contaron para realizar el análisis y determinar el valor de la CL<sub>50</sub>.

Tabla 2 Concentraciones de CdCl<sub>2</sub> utilizadas en los estudios de toxicidad aguda con 0.5x10<sup>6</sup> células/ml de *Chlorella*. Cada tratamiento con cuatro replicas.

Organismo	Concentración de <i>Chlorella vulgaris</i> células/ml	Concentración de CdCl <sub>2</sub> mg/l	Réplicas
<i>Alona glabra</i>	0.5x10 <sup>6</sup>	0 control	4
		0.05	
		0.1	
		0.2	
		0.4	
		0.8	
		1.6	

## Toxicidad crónica

El bioensayo de toxicidad crónica o subletal se realizó con un estudio de Tabla de Vida (TV). Consistió en un test de renovación donde las concentraciones se hicieron en base al valor de la  $CL_{50}$ , es decir, la concentración mayor de tóxico fue la décima parte del valor de la  $CL_{50}$ , la siguiente concentración fue la mitad de la anterior, la siguiente la mitad y así sucesivamente hasta completar un total de seis concentraciones con tóxico (ver Tabla 3). Este estudio se realizó para estudiar el efecto de tóxicos a largo plazo a los organismos a través algunos aspectos de la demografía como: fecundidad, supervivencia, esperanza de vida, ciclo de vida promedio, tasa de reproducción bruta, tasa de reproducción neta y tiempo generacional. Para el experimento se colocaron 20 neonatos de  $24 \text{ h} \pm 12 \text{ h}$  de edad en envases de vidrio con 50 ml de EPA con  $0.5 \times 10^6$  y  $2 \times 10^6$  células/ml de *Chlorella* y seis concentraciones distintas del tóxico y un grupo control con EPA y *Chlorella* solamente, cada tratamiento con cuatro repeticiones. El ensayo fue de renovación debido a que diariamente se cambiaba el medio de cada tratamiento. Se llevó un registro diario detallado del número de organismos muertos y los neonatos con la finalidad de su análisis. El criterio para determinar la muerte de un organismo consistió en la ausencia de movimiento de sus apéndices.

Los datos obtenidos se trataron según las fórmulas de Krebs (1985) y Pianka (1988):

Tasa reproductiva bruta	$= \sum_{x=0}^{\infty} m_x$	Donde:
		$m_x =$ fecundidad
Tasa reproductiva neta	$R_0 = \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x$	$l_x =$ supervivencia
		$x =$ edad
Tiempo generacional	$(T) = \frac{\sum l_x m_x x}{R_0}$	$e = 2.718$
		$l_x m_x = R_0$
Tasa de incremento poblacional	$(r) = \sum_{x=0}^{\infty} e l_x m_x = 1$	

Tabla 3 Concentraciones de CdCl<sub>2</sub> utilizadas en los estudios de toxicidad crónica con 0.5x10<sup>6</sup> y 2x10<sup>6</sup> células/ml de *Chlorella*. Cada tratamiento con cuatro replicas.

Organismo	Concentración de <i>Chlorella vulgaris</i> células/ml	Concentración de CdCl <sub>2</sub> mg/l	Réplicas
<i>Alona glabra</i>	0.5x10 <sup>6</sup>	0 control	4
		0.005	
		0.01	
		0.02	
		0.04	
		0.08	
		0.16	
	2x10 <sup>6</sup>	0 control	
		0.005	
		0.01	
		0.02	
		0.04	
		0.08	
		0.16	

## 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los resultados obtenidos del ensayo de toxicidad aguda en *Alona glabra* fueron para la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de 1.6 mg/l de CdCl<sub>2</sub>. Este resultado fue utilizado para realizar el ensayo de toxicidad crónica que a continuación se presentan.

Los valores de supervivencia que se observan en la Figura 2 fueron disminuyendo mientras las concentraciones de tóxico aumentaban de tal forma que para los grupos controles a partir del día 4 y día 6 empezaron a disminuir gradualmente hasta alcanzar los días 41 y 46 para los grupos con baja y alta concentración de alimento respectivamente, sin embargo los grupos con la concentración más alta de cadmio 0.16 mg/l sobrevivieron solamente hasta el día 6 y 9 para la concentración baja y alta de alimento respectivamente. De manera general se observa que el nivel alimenticio alto tiene un efecto positivo de al menos de un 50% sobre los niveles bajos de alimento en los valores de supervivencia independientemente del nivel de toxico.

Los valores de fecundidad (ver Figura 3) y esperanza de vida (ver Figura 4) aumentaron conforme la concentración de tóxico disminuía, de tal forma que los valores más altos de fecundidad y esperanza de vida fueron para los grupos con poco tóxico. El grupo con toxico 0.005 mg/l y una concentración alta de alimento obtuvo los valores de supervivencia, fecundidad y esperanza de vida muy similares a los del grupo control de tal forma que podemos decir que en este caso el nivel alimenticio ejerce una influencia que contrarresta el efecto nocivo del Cadmio. En los demás grupos la relación que se observa entre la concentración del tóxico y los valores de supervivencia, fecundidad y esperanza de vida son inversamente proporcionales es decir, a mayores niveles de tóxico disminuyen notablemente los valores demográficos arrojados por este estudio.

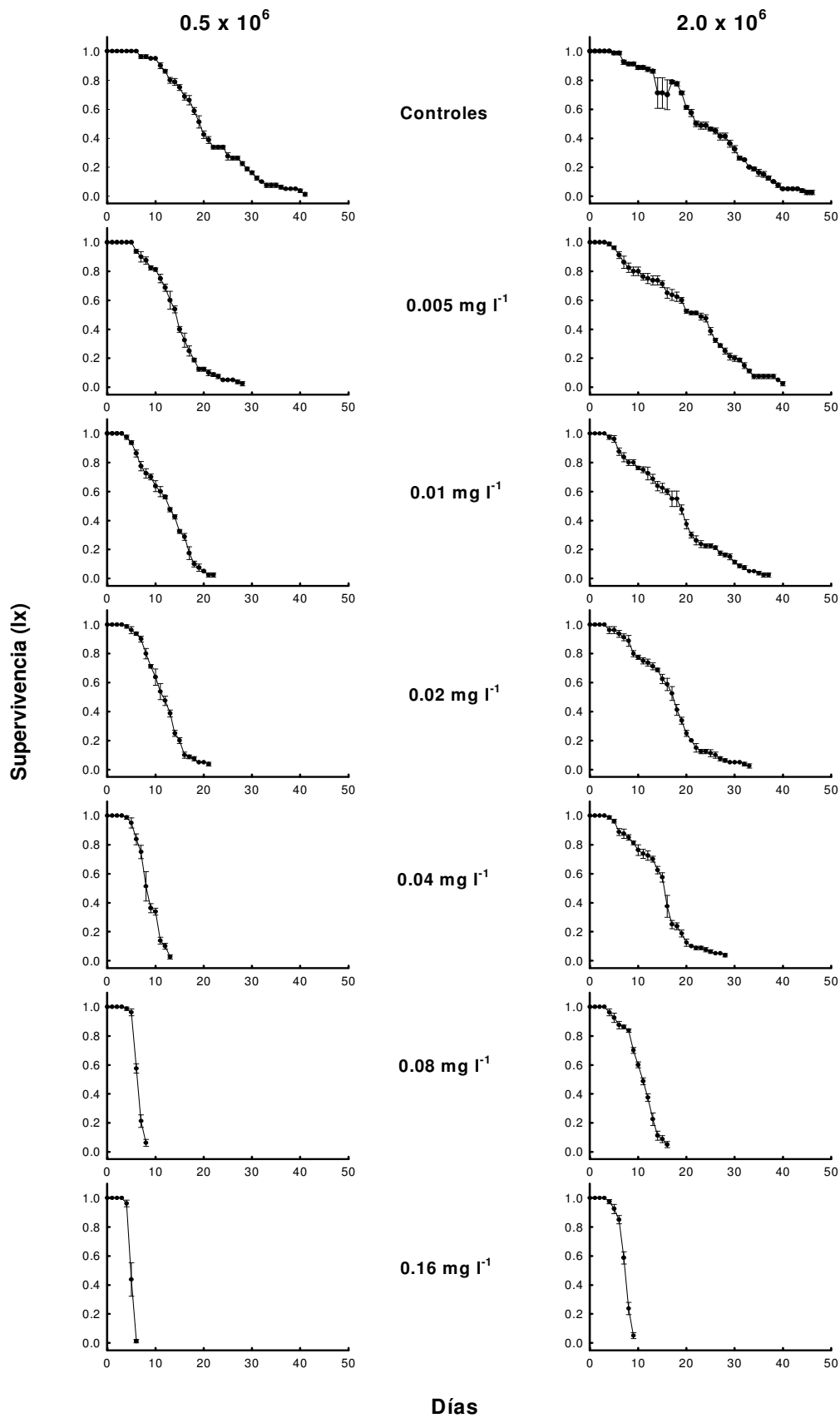


Figura 2 Gráficas de Supervivencia (Ix) de *Alona glabra* a  $0.5 \times 10^6$  (izquierda) y  $2.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  (derecha) de *Chlorella vulgaris*. Los valores representan el promedio con la desviación estándar basada en cuatro réplicas.

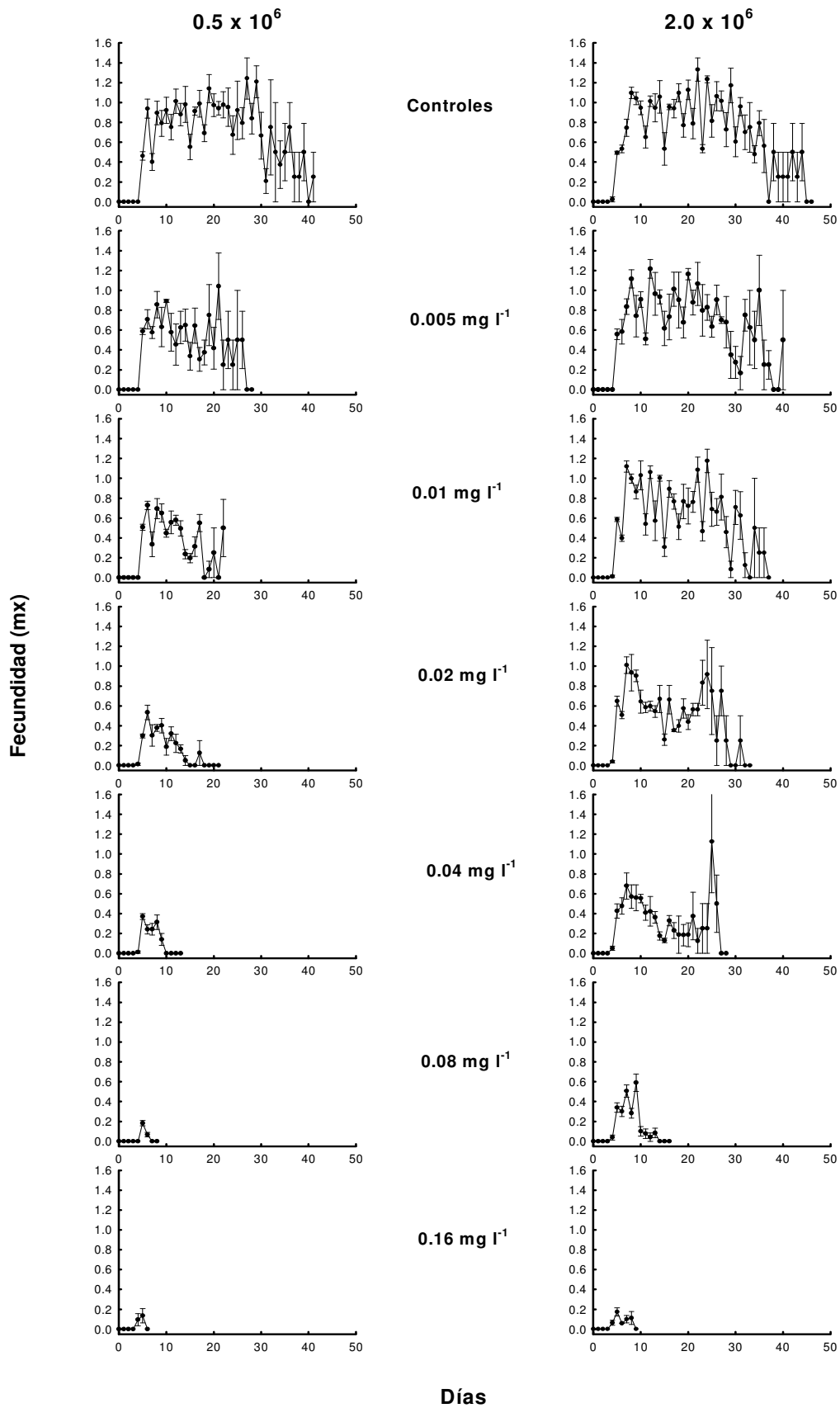


Figura 3. Gráficas de Fecundidad (mx) de *Alona glabra* a  $0.5 \times 10^6$  (izquierda) y  $2.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  (derecha) de *Chlorella vulgaris*. Los valores representan el promedio con la desviación estándar basada en cuatro réplicas.

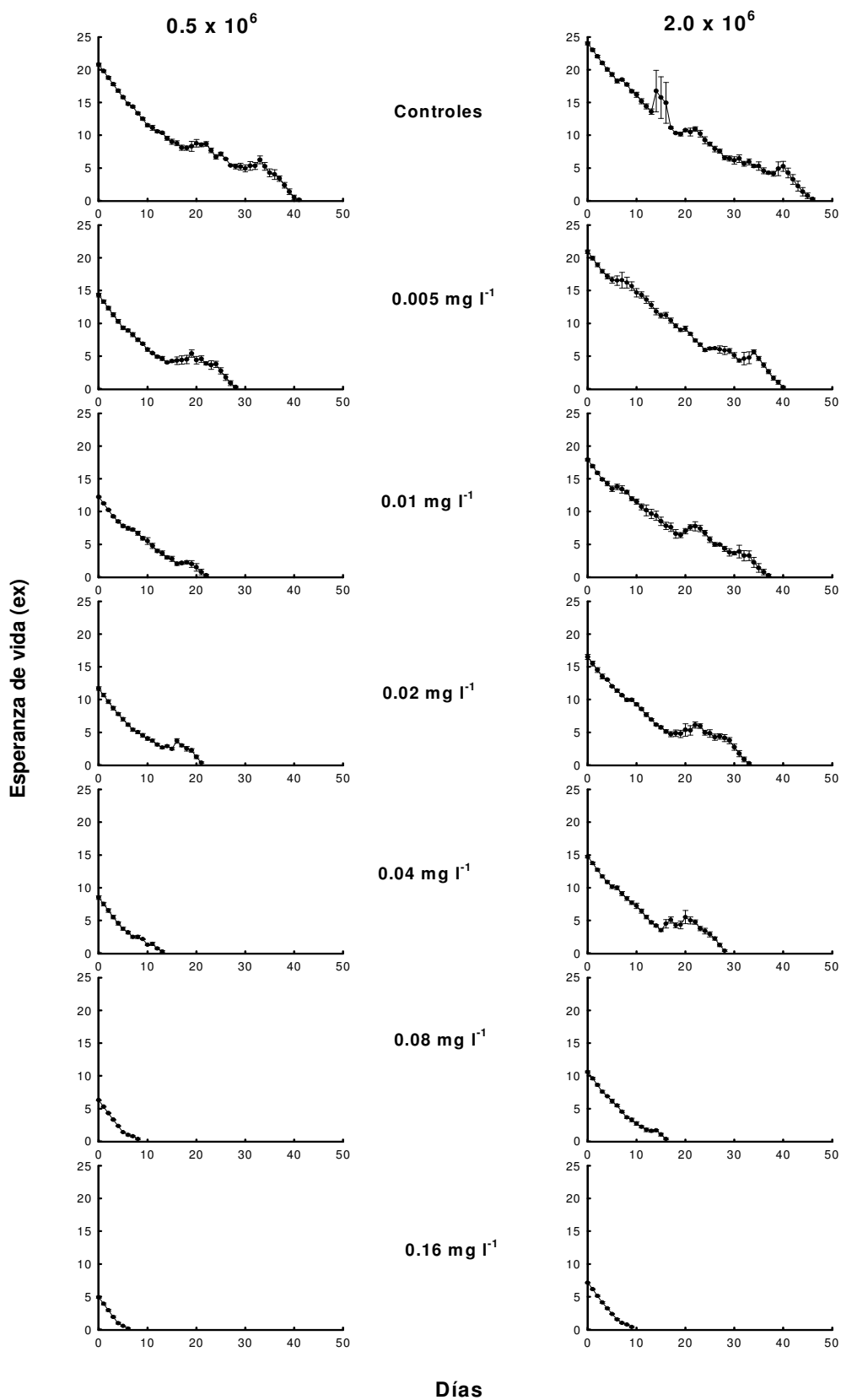


Figura 4. Gráficas de Esperanza de Vida (ex) de *Alona glabra* a  $0.5 \times 10^6$  (izquierda) y  $2.0 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  (derecha) de *Chlorella vulgaris*. Los valores representan el promedio con la desviación estándar basada en cuatro réplicas.



En la Figura 5 el ciclo de vida promedio para los grupos controles fue de 21.28 y de 24.52 días para las concentraciones de alga de  $0.5$  y  $2.0 \times 10^6$  células/ml respectivamente. El grupo con la concentración de cadmio de  $0.005$  mg/l con concentración de alimento alta ( $2.0 \times 10^6$  células/ml) tuvo un ciclo de vida promedio muy similar al del grupo control de 21.47 días. Los grupos con concentraciones de tóxico elevadas ( $0.16$  mg/l) tuvieron un ciclo de vida de 5.41 y de 7.62 días para las concentraciones baja ( $0.5 \times 10^6$  células/ml) y alta ( $2.0 \times 10^6$  células/ml) respectivamente, de tal forma que los organismos con más alimento tienen ciclos de vida más elevados que los que tienen menos alimento.

La reproducción bruta para los grupos controles fue de 26.57 y 29.99 número de neonatos producidos por una hembra durante todo el tiempo del experimento para los grupos con baja y alta concentración de alimento respectivamente. Los grupos con la concentración de cadmio más baja ( $0.005$  mg/l) obtuvieron valores de 12.42 neonatos para el grupo con baja concentración de alimento y de 24.62 neonatos para el grupo con alta concentración de alimento, de tal forma que el grupo con más alimento pudo duplicar el valor obtenido por el grupo con poco alimento. En general los grupos con mayor alimento superaron los valores de los grupos con poco alimento de tal forma que los grupos con un nivel alimenticio bajo disminuyeron más de un 50% el número total de neonatos en todos los grupos con tóxico

En la Figura 4 la tasa de reproducción neta para los grupos controles fue de 13.2 y 16.67 número promedio de neonatos producidos por una hembra durante el experimento para los grupos con baja y alta concentración de alimento respectivamente. Para los grupos con baja concentración de cadmio ( $0.005$  mg/l) obtuvieron valores de 6.11 y 13.05 neonatos para el grupo con baja y alta concentración de alimento respectivamente. Al igual que los valores de tasa de reproducción neta las concentraciones altas de alimento duplicaron al menos los valores de las bajas concentraciones de alimento, para un mismo nivel de tóxico.

El Tiempo generacional para los grupos controles fue de 14.96 y 16.93 días para baja y alta concentración de alga respectivamente. El grupo con alta concentración de alimento y baja concentración de cadmio obtuvo un valor superior al del grupo control (con baja concentración de alimento) de 15.38

días, sin embargo el grupo con baja concentración de alimento y la misma cantidad de cadmio obtuvo un valor de 10.25 días.

La Tasa de incremento poblacional para los grupos controles fue de 0.23 y 0.23 individuos por día para los grupos con baja y alta concentración de alimento respectivamente. Los tres grupos con concentraciones bajas de tóxico obtuvieron valores muy semejantes a los de los controles, incluso muy cercanos en el caso de los alimentados con *Chlorella* de  $2 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$ . Los grupos con baja concentración de cadmio obtuvieron valores de  $r$  muy similares 0.2 y 0.22 individuos para la concentración baja y alta de alimento respectivamente. Los grupos con 0.04, 0.08 mg/l de cadmio los valores de  $r$  fueron negativos para los grupos con baja concentración de alimento y positivos para la alta concentración de alimento, por ejemplo los grupos con 0.08 mg/l de cadmio obtuvieron 0.31 y 0.08 individuos para las concentraciones baja y alta respectivamente, es decir la concentración elevada de alimento representa una ventaja sobre la concentración baja de alimento debido a que el nivel alimenticio repercute positivamente en el incremento de la población. En el caso de la concentración mas elevada de toxico, este ejerce un efecto negativo en el incremento poblacional independientemente del nivel alimenticio

El  $\text{CdCl}_2$  tuvo un efecto negativo en el incremento poblacional, en las tasas de reproducción bruta y neta, a diferencia del ciclo de vida promedio y el tiempo generacional

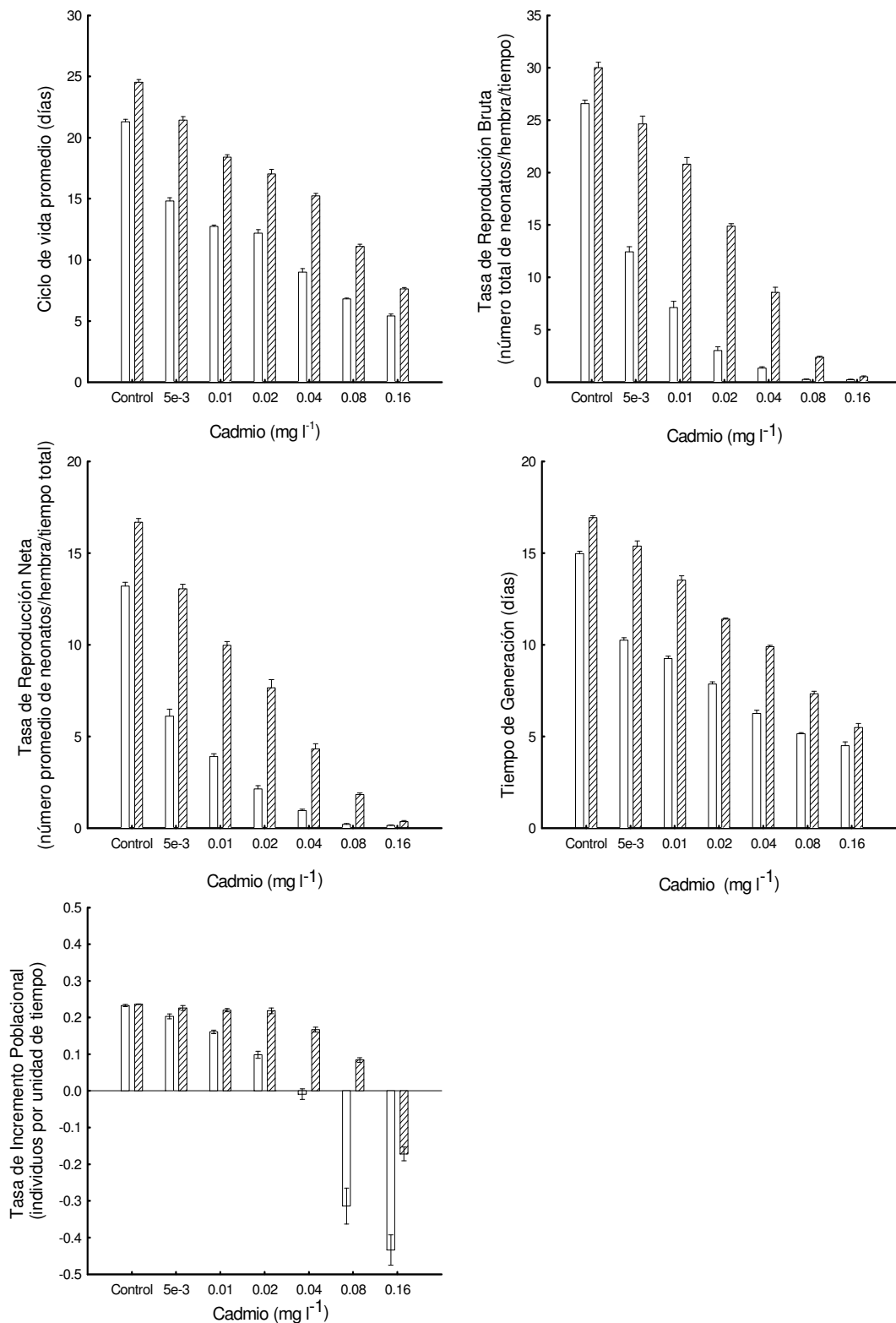


Figura 5. Gráficas de Ciclo de Vida Promedio, Tasa de Reproducción Bruta, Tasa de Reproducción Neta, Tiempo Generacional y Tasa de incremento poblacional de *Alona glabra* con el nivel alimenticio de *Chlorella vulgaris* de  $0.5 \times 10^6$  (barras blancas) y  $2.0 \times 10^6$  células ml<sup>-1</sup> (barras grises), Las graficas de. Los valores se presentan con la desviación estándar basada en cuatro réplicas.

Tabla 4. ANOVA (dos Factores). \*\*\* Efecto altamente significativo

<b>Tasa de incremento Poblacional (r)</b>				
Fuente de variación	df	SS	MS	F
<b>SUBGRUPOS</b>		13	2.498	0.19
Alimento	1	0.310	0.31	13.38***
Cadmio	6	1.946	0.32	223.15***
Interacción	6	0.243	0.04	27.82***
Entre Subgrupos (error)	42	0.061	0.00	
<b>TOTAL</b>	55	2.559		
<b>Tasa de Reproducción Neta</b>				
Fuente de variación	df	SS	MS	F
<b>SUBGRUPOS</b>		13	1590.081	122.31
Alimento	1	211.384	211.38	1073.02***
Cadmio	6	1307.101	217.85	1105.85***
Interacción	6	71.596	11.93	60.57***
Entre Subgrupos (error)	42	8.274	0.20	
<b>TOTAL</b>	55	1598.355		
<b>Ciclo de vida Promedio</b>				
Fuente de variación	df	SS	MS	F
<b>SUBGRUPOS</b>		13	1816.834	139.76
Alimento	1	313.031	313.03	1590.23***
Cadmio	6	1472.890	245.48	1247.07***
Interacción	6	30.913	5.15	26.17***
Entre Subgrupos (error)	42	8.268	0.20	
<b>TOTAL</b>	55	1825.102		

## 7. DISCUSIÓN

En la prueba de toxicidad aguda el valor que obtuvo *A. glabra* de  $CL_{50}$  fue de 1.6 mg/l. Dave *et al.* (1980) y Fargasova (1994) obtuvieron para *D. magna* un valor de  $CL_{50}$  de 0.56 mg/l. Nelson y Roline (1998) encontraron para *Ceriodaphnia dubia* una concentración de 0.13 mg/l. García-García (2002) obtuvo valores de  $CL_{50}$  de 0.42 y 0.68 mg/l para dos especies de cladóceros: *M. triserialis* y *M. macrocopa* respectivamente. *A. glabra* al obtener una  $CL_{50}$  fue de 1.6 mg/l para  $CdCl_2$  demuestra ser una especie más resistente que las anteriormente mencionadas. Barata *et al.* (2000) tras comparar la respuesta poblacional a contaminantes en dos poblaciones una en laboratorio y otra de campo encuentra que los organismos presentan una mayor uniformidad en sus respuestas al tóxico cuando los estudios son realizados en poblaciones de laboratorio que cuando son realizados con organismos provenientes del campo. La poca variabilidad genética que tienen estos organismos (no olvidemos que son parternogénicos y en laboratorio se reproducen principalmente de manera asexual) provoca la uniformidad de la respuesta. Por eso es importante tener en cuenta la variabilidad genotípica (organismos obtenidos de diferentes zonas geográficas) de los organismos a la hora de realizar bioensayos, estudios demográficos a largo plazo o incluso evolutivos.

La tendencia que mostraron los organismos en la prueba de toxicidad crónica es que la resistencia a los efectos del cadmio es inversamente proporcional a la cantidad de alimento, es decir, la cantidad de alimento elevada de *Chlorella vulgaris* ( $2 \times 10^6$  células/ml) hace que los efectos del tóxico se disminuyan, aumentando hasta un 100% comparando los valores de *Chlorella* de  $0.5 \times 10^6$  y  $2.0 \times 10^6$  células  $ml^{-1}$  tal como lo podemos ver en la Figura 5 de Tasa de reproducción neta o Tasa de incremento poblacional. Nandini y Sarma (2000) observaron que la especie pelágica *Ceriodaphnia dubia* aumentó la tasa de incremento poblacional, al elevar la cantidad de alimento *C. vulgaris* de  $0.5 \times 10^6$  a  $4.5 \times 10^6$  células  $ml^{-1}$ . Así mismo Martínez-Jerónimo y Gutiérrez-Valdivia (1991). Encontraron que las concentraciones de alimento altas promueven mayor sobrevivencia, crecimiento y fecundidad que las bajas en un cladóceros *Moina macrocopa* con distintas concentraciones de tres especies de microalgas *Ankistrodesmus convolutus*, *Scenedesmus*

*incrassatulus* y *Chlorella vulgaris*. De igual manera Martínez-Jerónimo y García-González (1994) basados en un estudio de tabla de vida encontraron que la concentración de alimento microalga *Scenedesmus incrassatulus* modifica la respuesta del cladóceros *Daphnia magna* al tóxico Sulfato Dodecil de Sodio, de tal forma que concentraciones altas de alimento provocan que la toxicidad sea menor. Así mismo concentraciones bajas de alimento aumentan el índice de reproducción neta (Ro).

La Supervivencia fue favorecida directamente por mayores concentraciones de alimento. En la concentración de *Chlorella* de  $2.0 \times 10^6$  comparada con la de  $0.5 \times 10^6$  células  $\text{ml}^{-1}$  se observó un aumento de al menos un 25% en todas las concentraciones de  $\text{CdCl}_2$ ; Martínez-Jerónimo *et al.* (1994) trabajaron el efecto de dos alimentos *Ankistrodesmus falcatus* y *Scenedesmus incrassatulus* en diferentes concentraciones (6, 12 y 18 mg/l) sobre la sobrevivencia, longevidad y reproducción de *Daphnia magna*, encontraron que las concentraciones altas de alimento disminuyen la sobrevivencia, longevidad y el número de episodios reproductivos y espacian mas uno de otro. La progenie total fue similar en cualquiera de los tratamientos bajos de alimento y la mayor cantidad de progenie fue obtenida con la concentración media de alimento.

La sensibilidad de los cladóceros a los tóxicos depende de múltiples factores, entre ellos el tamaño corporal y su fisiología. *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia* son organismos aceptados internacionalmente para realizar estudios de bioensayos (APHA, 1989). Sin embargo, ambas especies se consideran pelágicas (se encuentran en el lecho lacustre) (Dodson & Frey, 1991). México tiene una gran cantidad de cuerpos de agua pero muchos de ellos son poco profundos (De la Lanza & Calderón, 2000). De aquí surge la importancia de evaluar la posibilidad de utilizar especies nativas para las pruebas de toxicidad. Estudios indican que *Alona glabra* es una especie resistente a metales pesados y herbicidas como paratión metílico (García-García *et al.*, 2006; Sarma *et al.*, 2007). Sin embargo los neonatos de esta especie muestran una resistencia significativamente menor a los tóxicos que los especímenes adultos, lo cual convierte a este grupo de organismos en ideales para la evaluación de diferentes grupos de tóxicos.

## 8. CONCLUSIONES

1. *Alona glabra* es un organismo que tiene una mayor resistencia al  $\text{CdCl}_2$  con respecto a otras especies de cladóceros.
2. El impacto negativo a la toxicidad del cadmio fue mitigado por un nivel alto de alimento.
3. El efecto de una mayor concentración de cloruro de cadmio fue mayor en la Supervivencia relacionando las variables como Esperanza de vida y Tiempo Generacional que las variables de Tasa de Reproducción neta y Tasa de Incremento Poblacional.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Abel T. y Barlocher F. 1988. Uptake of cadmium by *Gammarus fossarum* (Amphipoda) from food and water. *Journal of Applied Ecology*. 25, 223-231.
- 2 Albert L.A. (editor). 2004. *Toxicología ambiental*. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. México. 453 pp.
- 3 APHA, AWW, WPCF. 1989. *Standard methods, for the examination of water and waste water*. 17a Ed. Denver, Colorado 99p.
- 4 Atwell L., Hobson K. y Welch H. 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in arctic marine food web: insights from stable nitrogen isotope analysis. *Can. J. Fish Aquat. Sci.* Vol 55: 1114-1121.
- 5 Barata C., Baird D.J., Amat F. y Soares A.M.V.M. 2000. Comparing population response to contaminants between laboratory and field: an approach using *Daphnia magna* ephippial egg banks. *Functional Ecology*. 14; 513-523.
- 6 Cervantes C. y Moreno-Sánchez R. 1999. *Contaminación ambiental por metales pesados*. AGT Editor.
- 7 Dave G., Andersson K., Berglund R. y Hasselrot B. 1980. Toxicity of eight solvent extraction chemicals and of cadmium water fleas, *Daphnia magna*, rainbow trout, *Salmo gairderi*, and zebrafish, *Brachidanio rerio*. *Comp. Biochem Physiol.* 69: 11-20.
- 8 De la Lanza, E.G. & J.L. Calderon García (eds). 2002. *Lagos y presas de México*. AGT Editores. Mexico.
- 9 De la Vega-Salazar M., Martínez-Tabche L. y Macías-García C. 1997. Bioaccumulation of methyl parathion and its toxicology in several species of the freshwater community in Ignacio Ramirez dam in México. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 48: 53-62.
- 10 Díaz-Barriga F. 1991. Principios de la toxicidad del Cadmio. *Ciencia y Desarrollo*. Mayo-junio. 1991. vol. XVII, num. 98; 61-68.
- 11 Dodson S. y Frey D. 1991. *Ecology and classification of north american freshwater invertebrates*. Editorial Academic Press Inc. U. S. A.



- 12 Elmoor-Loureiro L.M.A., Mendonça-Galvão L. y Padovesi-Fonseca C. 2004. New cladoceran records from lake Paranoá, Central Brazil. *Braz. J. Biol.* 64 (3A): 415-422
- 13 Fargasova A. 1994. Toxicity of metals on *Daphnia magna* and *Tubifex tubifex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 27: 210-213.
- 14 Gama-Flores J.L. 2001. Estudio crónico conjunto del Paratión metílico y densidad alimenticia (*Chlorella vulgaris*): efectos a nivel poblacional de especies de rotíferos seleccionados. Tesis Maestría. ICMYL-UNAM. México. D.F. 54 pp.
- 15 Gama-Flores J.L., Sarma S.S.S. y Nandini S. 2007. Exposure time-dependent cadmium toxicity to *Moina macrocopa* (Cladocera): a life table demographic study. *Aquat. Ecol.*
- 16 García-García G. 2002. Interacciones entre diferentes concentraciones de alimento y varios niveles de cadmio, sobre crecimiento poblacional de los cladóceros *Moina macrocopa* y *Macrothrix triserialis*: pruebas de toxicidad aguda y crónica. Tesis Biología. FESI-UNAM. 49 pp.
- 17 García-García G, Nandini S & Sarma SSS 2006 Turbidity mitigates lead toxicity to cladocerans (Cladocera). *Ecotoxicology* 15: 425-436 (Springer, USA).
- 18 Hartgers E., Alderink G., Van der Brink P., Gylstra R., Wiegman J. y Brock T. 1998. Ecotoxicological threshold levels of mixture of herbicides (atrazine, diuron and metolachlor) in freshwater microcosm. *Aquatic Ecology*. 32:135-152.
- 19 Hunter B.A., Johnson M.S. y Thompson D.J. 1987. Ecotoxicology of cooper and cadmium in a contaminated grassland ecosystem. II invertebrates. *Journal of Applied Ecology*. 24, 587-599.
- 20 INE. Normas Oficiales Mexicanas en materia de protección ambiental 1993 – 1994. SEDESOL: México, 1994.
- 21 INEGI. 2007. La minería en México. 138 pp.
- 22 Kammenga J.E., Busschers M., Van Straalen N.M., Jepson P.C y Bakker J. 1996 Stress induced fitness reduction is not determined by the most sensitive life-cycle trait. *Functional Ecology*. 10, 106-111.

- 23 Knops M., Altenburger R. y Segner H. 2001. Alterations of physiological energetics, growth and reproduction of *Daphnia magna* under toxicant stress. *Aquatic Toxicology*. 53; 79-90.
- 24 Krebs C. 1985. The experimental analysis of distribution and abundance. Tercera edición. Harper and Row Pub. Inc. New York. 800 pp.
- 25 Martínez-Jerónimo F. y García-González R. 1994. Effect of food concentration on the chronic toxicity of sodium dodecyl sulphate to *Daphnia magna*. *Journal of Aquatic Ecosystem Health* 3: 247-253.
- 26 Martínez-Jerónimo F. y Gutiérrez-Valdivia A. 1991. Fecundity, reproduction and growth of *Moina macrocopa* fed different algae. *Hydrobiologia* 222: 49-55.
- 27 Martínez-Jerónimo F., Villaseñor R., Rios G. y Espinosa F. 1994. Effect of food type and concentration on the survival, longevity, and reproduction of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 287: 207-214.
- 28 Michels E. Semsari S. Bin C. y De Meester L.. 2000. Effect of sublethal doses of cadmium on the phototactic behavior of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 47; 261-265.
- 29 Molles M. 2005. Ecología. Conceptos y aplicaciones. 3ª edición. Editorial Mc Graw Hill. España. 671 pp.
- 30 Muro-Cruz G. 2002. Estudio experimental sobre tablas de vida y competencia entre dos especies de cladóceros (Crustáceos: Cladóceras). Tesis Maestría. FC-UNAM. 61 pp.
- 31 Muro-Cruz G., Nandini S. y Sarma S.S.S. 2002. Comparative life table demography and population growth of *Alona glabra* and *Macrothrix triserialis* (Cladocera: Crustácea) in relation to algal (*Chlorella vulgaris*) food density. *Journal of Freshwater Ecology*. Vol 17 Number 1-11 march.
- 32 Nandini S. y Sarma S. 2000. Life table demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia* 435: 117-126.
- 33 Nandini S. y Sarma S. 2002. Population growth of some genera of cladocerans (Cladocera) in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) levels. *Hydrología*. 00: 1-9.
- 34 Newman M. y McIntosh A. 1991. Metal ecotoxicology. Editorial Board. USA.

- 35 Norma Oficial Mexicana (NOM-074-ECOL-1994). Anexo. NMX-AA-067-SCFI-1996.
- 36 Pianka E. 1988. Evolutionary Ecology. Harper and Row Pub. Inc. New York. 468 pp.
- 37 Pica-Granados Y., Trujillo G.D., Hernandez H. S. 2000. Bioassay standarization for water quality monitoring in México. Environ. Toxicol. 15: 322-330 p
- 38 Roex, E. W. M., Van Gestel, C. A. M., Van Wezel, A. P. & Van Straalen, N. M. (2000) Ratios between acute acuatic toxicity and effects on population growth rates in relation to toxicant mode of action. *Env. Toxicol. Chem.* 19: 685-693
- 39 Ruppert E. E. y Barnes R. D. 1996. Zoología de los invertebrados. 6ª edición. Editorial Mc Graw-Hill. México. 1114 pp.
- 40 Sarma S., Nandini S. Y Araiza F. 1998. Effect of methyl parathion treated prey (*Brachionus patulus*) on the population growth of the predator *Asplanchna sieboldi* (Rotifera). *Boll. Environ. Contam. Toxicol.* 61: 135-142.
- 41 Sarma SSS, Peredo-Alvarez V.M. & Nandini S. 2007. Comparative study of the sensitivities of neonates and adults of selected cladoceran (Cladocera: Crustacea) species to acute toxicity stress. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 42(10): 1449-1452 (Taylor & Francis, USA).
- 42 Serrano G.R. 2003. Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos. Editorial Universitat Jaume I (Castelló). 189 pp.
- 43 Sick L.V. y Baptist G.J. 1979. Cadmium incorporation by the marine copepod *Pseudodiaptomus coronatus*. *Limnol. Oceanogr.* 24(3), 453-462.
- 44 Taylor y Francis. 1996. Water Pollution Biology. UK. 286pp.
- 45 Vega-Quintero S. 1996. Caracterización y análisis bromatológico de una cepa mono algal: *Chlorella vulgaris* Beijirink colectada en la atmósfera con posible uso en acuacultura. Tesis Biología. ENEP Iztacala. UNAM.
- 46 Villarreal-Treviño C., Obregón-Morales M., Lozano-Morales J. y Villegas-Navarro A. 1986. Bioaccumulation of lead, copper, iron and zinc by fish

in a transect of the Santa Catarina river in Cadereyta Jiménez, Nuevo León, México. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 37: 395-401.

- 47 Wogram J. y Liess M. 2001. Rank ordering of macroinvertebrate species sensitivity to toxic compounds by comparison with that of *Daphnia magna*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 67; 360-367.
- 48 Zou E. 1997. Effects of sublethal exposure to zinc chloride on the reproduction of water flea, *Moina irrasa* (Cladocera). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58; 437-441.