



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
LIMNOLOGÍA

**Efectos de diferentes concentraciones de fármacos seleccionados
(antiinflamatorio (ibuprofeno) y antibiótico (amoxicilina)) sobre
Brachionus calyciflorus y *Brachionus havanaensis* (Rotífera): Un estudio a
nivel poblacional**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

PRESENTA:
BRENDA KAREN GONZÁLEZ PÉREZ

DR. SARMA SUBRAHMANYA SINGARAJU SRI
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

DRA. ROSARIO SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

DRA. MARISA MAZARI HIRIART
Instituto de Ecología

DR. MARTÍN FRÍAS ESPERICUETA
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

DR. MARCELO SILVA BRIANO
Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

MÉXICO, D. F. Febrero del 2015



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.



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México

**Efectos de diferentes concentraciones de fármacos seleccionados
(antiinflamatorio (ibuprofeno) y antibiótico (amoxicilina)) sobre
Brachionus calyciflorus y *Brachionus havanaensis* (Rotífera): Un estudio a
nivel poblacional**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de

MAESTRA EN CIENCIAS

Limnología

P r e s e n t a

BRENDA KAREN GONZÁLEZ PÉREZ

Director de Tesis: DR. SARMA SUBRAHMANYA SINGARAJU SRI

Comité Tutorial: DRA. ROSARIO SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

DRA. MARISA MAZARI HIRIART

DR. MARTÍN FRÍAS ESPERICUETA

DR. MARCELO SILVA BRIANO

ÍNDICE

DEDICATORIAS.....	4
AGRADECIMIENTOS.....	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN.....	9
Fármaco: producción y consumo	9
Legislación	12
Rotíferos (organismos de bioensayo)	12
ANTECEDENTES	16
JUSTIFICACIÓN	17
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS.....	18
Objetivo general	18
Objetivos particulares	18
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS	23
<i>Brachionus calyciflorus</i> (amoxicilina)	23
<i>Brachionus calyciflorus</i> (ibuprofeno)	25
<i>Brachionus havanaensis</i> (amoxicilina).....	28
<i>Brachionus havanaensis</i> (ibuprofeno).....	31
CONCLUSIONES	71
REFERENCIAS	73
ANEXOS	78
Anexo 1. Medio Bold Basal	78
Anexo 2. Fotos <i>Brachionus calyciflorus</i> (Pallas, 1776)	79
Anexo 2. Fotos de <i>Brachionus havanaensis</i> (Rousselet, 1911)	80

DEDICATORIAS

Mi tesis la dedico a las dos personas más importantes en mi vida,

Leticia Pérez Corona y Jorge Luis González Andraca

No tengo palabras que realmente expresen el cariño y el agradecimiento que tengo hacia ustedes. Gracias por siempre apoyarme y guiarme en este camino que he elegido.

“El futuro pertenece a quienes creen en la belleza de sus sueños.”

Eleanor Roosevelt

AGRADECIMIENTOS

Con mucho cariño a mi hermana, quien en todo momento ha estado conmigo apoyándome no solo a nivel profesional sino en cuestión emocional. Por enseñarme tantas cosas, hacerme ver mis errores y pasar tantas experiencias juntas. Gracias por escucharme y tratar de entender a pesar de que el tema es completamente diferente a lo que te dedicas. Te quiero manito.

Alicia Corona, gracias abue por ser una segunda madre para mí. Por siempre estar apoyándome pero sobre todo escucharme a pesar de todo. Te adoro.

A todos mis tíos que siempre están al pendiente de mis estudios y apoyarme en todo momento: Alejandro, Carlos, Mauro, Gerardo, Ely, Araceli, Jannette y Virginia.

Gracias a todos mis primos por todos esos momentos tan divertidos.

A mis amigos que se han convertido en hermanos para mí, por enseñarme lo que es la verdadera amistad gracias Diego y Roció.

A Aarón quien ha estado en un momento muy importante en mi vida, gracias por apoyarme, escucharme y entenderme en todo momento. Nunca podre terminar de agradecerte. Gracias por enseñarme que la vida es hermosa.

Gracias a mis amigos y compañeros del laboratorio de zoología acuática por todos esos momentos divertidos que hemos pasado en el laboratorio, por estar conmigo en las buenas y malas experiencias. Por hacer que las largas horas de trabajo se convirtieran en momentos divertidos. Gracias Gis, Alma, Ger, Lety, Mayra, Ram, Uriel y Aurorita.

Al **Dr. Sarma** por aceptar dirigir este proyecto de tesis, por su comprensión y apoyo durante esta etapa, gracias.

Dra. Nandini gracias por todos los consejos que me ha brindado y por siempre estar al pendiente de mi. Pero sobre todo por ayudarme formar una piel de rinoceronte.

Muchas gracias a los doctores que formaron parte de mi comité: Dra. Rosario Sánchez Rodríguez, Dra. Marisa Mazari Hiriart, Dr. Martín Frías Espericueta y al Dr. Marcelo Silva Briano. Sin su apoyo y observaciones que realizaron a este proyecto no hubiese sido posible culminar. Gracias por el tiempo que dedicaron para que este trabajo fuera mejor.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología y la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por brindarme el apoyo necesario y la oportunidad de formar parte.

Al apoyo brindado por CONACyT (6176)

RESUMEN

La mayoría de los ecosistemas acuáticos en México son poco profundos, por lo tanto son fácilmente afectados por los efluentes tanto domésticos, industriales así como provenientes de hospitales, que contienen productos farmacéuticos. Los analgésicos y antibióticos son generalmente consumidos en conjunto por los pacientes y el público en general. Muchos analgésicos como el ibuprofeno no se necesitan una receta médica debido a su bajo riesgo en cuanto a los efectos secundarios. Todos los antibióticos, incluyendo la amoxicilina son fármacos que se necesita una prescripción médica. Sin embargo un control estricto sobre los vertidos de productos farmacéuticos en los cuerpos de agua naturales rara vez es seguido. La amoxicilina y el ibuprofeno son los fármacos prescritos con mayor frecuencia en México por el sector salud. Sin embargo, los datos cuantitativos sobre los efectos de estos fármacos para los organismos que no deberían estar en contacto son deficientes. Los crustáceos y rotíferos dominan el zooplancton de agua dulce. Los rotíferos, debido a su sensibilidad, tiempo de generación corto y altas tasas de reproducción, son ampliamente utilizados como organismos de bioensayo en las pruebas de los efectos de varias sustancias, incluyendo productos farmacéuticos. En este trabajo, hemos cuantificado las respuestas de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis* expuestos a tres concentraciones subletales de ambos fármacos tanto el ibuprofeno como la amoxicilina. En general, nuestros datos muestran que ambas variables relacionadas con la supervivencia y la reproducción fueron afectadas con el aumento de la concentración de ambos productos farmacéuticos. Sin embargo, la amoxicilina afectó más adversamente la supervivencia y reproducción de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* a diferencia del ibuprofeno.

ABSTRACT

Most aquatic ecosystems in Mexico are shallow and hence are easily affected by domestic and industrial effluents containing pharmaceuticals. Pain-killers and antibiotics are generally together consumed by patients and healthy public. For many pain-relievers such as Ibuprofen no medical prescription is needed due to its low risk of side effects. All antibiotics including amoxicillin are prescription drugs. Nevertheless strict control on the discharges of pharmaceuticals into natural waterbodies is rarely followed. Amoxicillin and ibuprofen are the most frequently prescribed pharmaceuticals in Mexico. Yet, quantitative data on the effects of these pharmaceuticals to non-target organisms are wanting. Crustaceans and rotifers dominate the freshwater zooplankton. Rotifers, due to their sensitivity, short generation time and high reproductive rates, are widely used as bioassay organisms in testing the effects of various substances including pharmaceuticals. In this work, we quantified the responses of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus havanaensis* exposed to three sublethal concentrations of both ibuprofen and amoxicillin. In general, our data showed that both survivorship-related variables and reproduction were both affected with the increase in the concentration of both pharmaceuticals. Nevertheless, amoxicillin more adversely affected both survival and reproduction of *B. calyciflorus* and *B. havanaensis* than ibuprofen.

Efectos de diferentes concentraciones de fármacos seleccionados (antiinflamatorio (ibuprofeno) y antibiótico (amoxicilina)) sobre *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis* (Rotífera): Un estudio a nivel poblacional

Programa de Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Laboratorio de Zoología Acuática, Unidad de Morfología y Función, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090, Los Reyes, Estado de México, México.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los niveles de contaminantes emergentes han aumentado drásticamente y se han vuelto un problema potencial tanto para la salud humana como ambiental (Burkhardt-Holm., 2010). Los efectos ecotoxicológicos de estos contaminantes en diferentes niveles de jerarquía biológica aun no son bien conocidos (Halling-Sbrensen *et al.*, 1998). Dentro de los contaminantes emergentes en el ambiente, se encuentran aquellos productos de cuidado personal, drogas ilícitas, disruptores endocrinos y fármacos (Daughton y Ternes, 1999).

Fármaco: producción y consumo

Dentro de los fármacos de uso común en México se encuentran los AINE'S (Antiinflamatorio no esteroideo) y los antibióticos (OMS, 2004; Dresser *et al.*, 2008) de los cuales en México los de mayor consumo corresponden al ácido acetilsalisílico, paracetamol, ibuprofeno, diclofenaco y naproxeno (OMS, 2004). Y por otra parte según la Asociación Nacional de Farmacias de México dentro de los antibióticos más vendidos y consumidos en México, se encuentra ubicada en primer lugar la amoxicilina (ANAFARMEX, 2010).

El ibuprofeno es un derivado sencillo del ácido fenilpropiónico, posee una eficaz actividad antiinflamatoria, antipirética y analgésica (Bejarano, 2006). Su vida media es de dos horas

y el medicamento es metabolizado en el hígado y menos del 10% se excreta sin cambio (Camps García *et al.*, 2005)

Los antibióticos son drogas producidas por cierto tipos de microorganismos, que inhiben el desarrollo o provocan la muerte de otros microorganismos (Bergoglio, 1977). Los antimicrobianos se encuentran entre los medicamentos más vendidos y consumidos en México: representando el segundo lugar en ventas anuales (Dreser *et al.*, 2008). La amoxicilina es una penicilina semisintética, de acción bactericida y posee una vida media de 60 a 75 minutos (Flórez *et al.*, 1997).

El uso irracional de los antimicrobianos ha conllevado al aumento en la resistencia bacteriana. Estas bacterias se adaptan rápidamente a las condiciones de su medio, aun en la presencia de estos fármacos. Los antibióticos difieren de los otros medicamentos porque no sólo ejercen un efecto terapéutico sino que alteran también la ecología de la microflora del cuerpo y del medio externo (Benavides-Plascencia, 2005).

Los fármacos no son tan diferentes de otros químicos. Las descargas locales de las farmacéuticas contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental debido a las altas concentraciones en sitios pequeños (Kümmerer, 2001b). En realidad, grandes cantidades de productos farmacéuticos son descargados continuamente hacia las plantas de tratamiento cuando son utilizados para tratamiento humano y directamente hacia aguas superficiales o en suelo cuando se les da un uso de tipo veterinario (Ternes, 1998). Estos productos son emitidos en grandes cantidades durante la fertilización de suelos agrícolas, instalaciones de acuicultura, aguas de desecho de hospitales en pequeñas plantas de tratamiento, descargas hacia lagos y desechos inapropiados de fármacos (Halling-Sbrensen, 2000). Estos, entran de manera natural a los cuerpos de agua por medio de transporte hidrológico debido a efluentes de plantas de tratamiento y una gran variedad de trayectorias (Araujo y McNair, 2007). A diferencia de otros químicos, la mayoría de estos productos son desechados o descargados hacia el ambiente continuamente por vías como sistemas de drenaje industrial y doméstico (Daughton y Ternes, 1999).

A pesar de que no es bien conocido el proceso, existe evidencia de que grandes cantidades de medicamentos prescritos y no prescritos no llegan a ser consumidos, y muchos de estos productos farmacéuticos son eventualmente descargados hacia el excusado o vía doméstica (Daughton y Ternes, 1999).

Aunque una pequeña parte de estos productos puede ser removida por plantas de tratamiento de agua, la gran mayoría no logra eliminarlos en su totalidad (Jones *et al.*, 2004; Semarnat, 2007) y eventualmente son descargados hacia diversos cuerpos de agua (Daughton y Ternes, 1999).

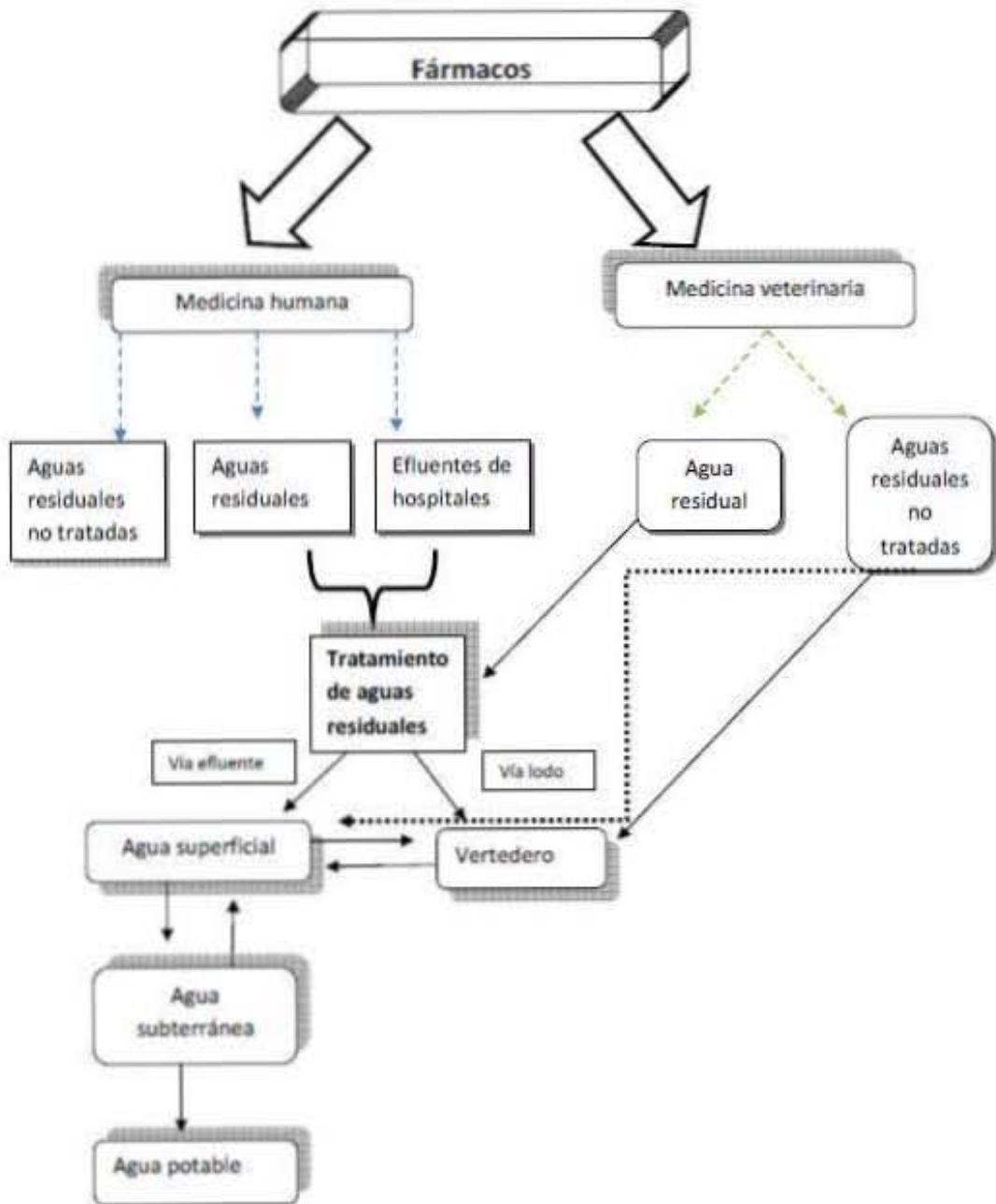


Imagen 1. Fuentes de introducción de fármacos en el ambiente acuático. Tomado de Kümmerer, 2001b.

Legislación

La importancia radica en que en México la venta de AINE'S no requiere receta médica y son de los medicamentos más utilizados por la población (OMS, 2004; Gómez-Oliván *et al.*, 2009). Por otra parte el artículo 226 de la LGS (Ley General de la Salud) señala la regulación de la venta de medicamentos clasificados como grupo IV (donde se incluyen únicamente a los antibióticos) con prescripción médica. No obstante, en la práctica, esta regulación no se hace cumplir. Diversas investigaciones concluyen que entre el 40 y el 60% de los antibióticos se venden sin receta médica (Instituto Nacional de Salud Publica, 2010). Por otra parte, hoy en día no se cuenta con alguna legislación en el país que contemple la presencia de productos farmacéuticos o de cuidado personal en cuerpos de agua, mucho menos límites permisibles de éstas sustancias (Valdés-Alanís, 2009).

A pesar de que la detección de los efectos negativos en el ambiente acuático es sumamente difícil; existen pruebas de laboratorio *in vivo e in vitro*, que muestran generalmente los efectos tóxicos de estos compuestos aunque no sean los niveles o concentraciones presentes en el ambiente ($\mu\text{g L}^{-1}$ y ng L^{-1}) (Daughton y Ternes, 1999). Además los efectos de compuestos en forma de mezcla, una adición en la concentración, el sinergismo, la posibilidad de variaciones en la sensibilidad y exposición crónica no pueden ser descartados (Altenburger *et al.*, 2004; Cleuvers, 2004). Estos riesgos potenciales asociados al desecho de medicamentos en el ambiente, cada vez más provocan inquietudes tanto para los reguladores ambientales como para las industrias farmacéuticas (Crane *et al.*, 2006).

De tal manera que los fármacos pueden ser introducidos al ambiente después de su uso en pacientes y animales, ya que son excretados de forma inalterada o como metabolitos a través de la orina o las heces en las descargas de agua doméstica hacia ríos y lagos (Jemba, 2006). Considerando estos factores, la evaluación de riesgo en el ambiente acuático debido a la exposición de organismos a estas sustancias es de suma importancia (Cleuvers, 2004).

En los sistemas acuáticos dulceacuícolas las comunidades planctónicas están constituidas por organismos con periodos de vida cortos y muchos de ellos son fácilmente manipulables lo cual ha permitido formular modelos sobre las estructuras de comunidades. Dentro de estas se encuentran las comunidades zooplanctónicas que están constituidas principalmente por crustáceos y rotíferos (Porcuna *et al.*, 2004).

Rotíferos (organismos de bioensayo)

Los rotíferos son un pequeño grupo de invertebrados, llamados de esta manera, por poseer en la cabeza un órgano en forma de disco, que gira, y se encuentra rodeado por una corona

de cilios que cumple con funciones como la alimentación, obtención de materiales recepción de químicos, entre otros (Nogrady *et al.*, 1993).

En condiciones desfavorables (ambientales y de alimentación), estos organismos se pueden reproducir por vía sexual y asexual (Rao y Sarma, 1985). El tipo de reproducción varia en las tres clases de rotíferos (Wallace, 1998). En el caso de las especies de la clase Seisonidea, se reproducen exclusivamente por vía sexual (gametogénesis). Por otra parte, en cuanto a la clase Belloidea, se reproducen completamente por vía asexual (partenogénesis). Y por último, en el caso de la clase Monogononta, presentan una partenogénesis cíclica, en donde predomina la reproducción asexual pero ocasionalmente también ocurre la sexual (Wallace y Snell, 2001).

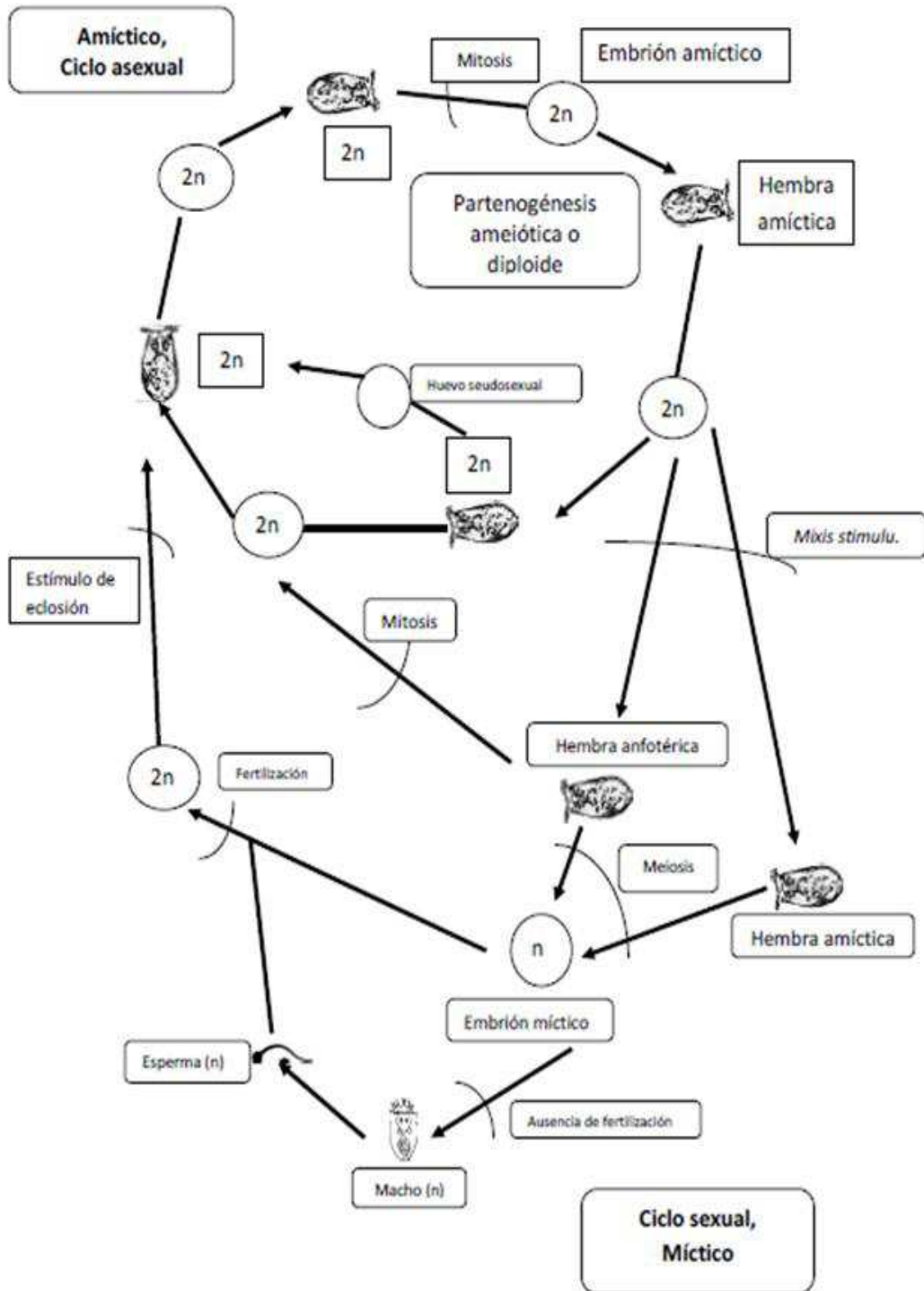


Imagen 2. Ciclo de vida generalizado de rotífero monogononta. Tomado y modificado de Wallace y Snell (2001).

Los rotíferos se alimentan principalmente de detritus, bacterias, fitoplancton y levaduras, es decir, son consumidores primarios (Nogrady *et al.*, 1993). Estos organismos son una importante fuente de alimento para microcrustáceos, larvas de insectos y peces. Algunas especies son consideradas indicadores de calidad de agua debido a que son sensibles a cambios ambientales, por lo cual responden con rapidez a ciertos tipos de toxicidad (altas concentraciones de cianobacterias, insecticidas, metales, productos de cuidado personal y fármacos) y por ende son utilizados como organismos bioindicadores (Sarma, 1991; Snell y Joaquim-Justo, 2007).

Sin embargo el potencial que implica trabajar con rotíferos como organismos modelos en ecotoxicología ha sido ya reconocido por un tiempo (Snell y Janssen, 1995), y hoy en día se ha enfocado hacia áreas emergentes de inquietud como lo es el impacto de disruptores endocrinos y productos farmacéuticos (Snell y Joaquim-Justo, 2007).

Estos organismos han sido ya utilizados en evaluaciones de riesgo de fármacos y sus metabolitos ya que tienen mayor sensibilidad a bajas concentraciones de estas sustancias xenobióticas que otros organismos acuáticos como lo son los cladóceros y ciertas algas (Snell y Joaquim-Justo, 2007).

A diferencia de otros organismos, se ha observado claramente como las poblaciones de rotíferos cambian drásticamente en presencia de ciertos tipos de tóxicos, lo cual tiene grandes implicaciones puesto que es de gran ayuda en el monitoreo ambiental estudiando sus variables demográficas (Sarma, 1991).

En cuanto a evaluaciones toxicológicas estos organismos son expuestos a compuestos de acuerdo a protocolos ya estandarizados, dando como resultado valores de CL50s (Concentración letal 50), CE50s (Concentración efectiva media), o CENOs (concentración de efectos no observados) para los puntos finales reproductivos y/o de comportamiento (Wallace, 2002).

Especies del género *Brachionus* (por ejemplo: *Brachionus calyciflorus*, *Brachionus plicatilis* y *Brachionus havanaensis*) han sido utilizados como organismos de bioensayo de tipo ecotoxicológico tanto agudos como crónicos, debido a que son altamente sensibles a la contaminación y son consideradas fundamentales para realizar monitoreos selectivos de contaminación en cuerpos de agua (Sarma *et al.*, 2008).

ANTECEDENTES

Pascoe et al. (2001) realizaron un estudio de toxicidad aguda y crónica en 10 fármacos de uso común (ibuprofeno, paracetamol, ácido acetilsalisílico, amoxicilina, bendroflumetiazida, furosemida, atenolol, diazepam, digoxina y amlodipina) sobre *Hydra vulgaris*, concluyendo que estas sustancias pueden afectar a los invertebrados acuáticos.

Cleuvers (2004) evaluó la toxicidad de la mezcla de los antiinflamatorios ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno y ácido acetilsalisílico. La toxicidad fue relativamente baja, obteniendo para *Daphnia magna* valores de la concentración media efectiva (CE₅₀) en un intervalo de 68 a 166 mg L⁻¹. Concluyó que debido a la presencia frecuente de fármacos en forma de mezcla en el ambiente acuático, es indispensable la evaluación de riesgo ambiental.

Isidori et al. (2005) realizaron una evaluación tóxica de seis antibióticos (eritromicina, oxitetraciclina, sulfametoxazol, ofloxacina, lincomicina y claritromicina) sobre cinco organismos acuáticos. Las evaluaciones agudas y crónicas fueron realizadas con los siguientes organismos: bacterias, algas, microcrustáceos, peces y rotíferos. Los resultados ecotoxicológicos mostraron una toxicidad aguda del orden de mg L⁻¹.

En cuanto a las evaluaciones crónicas mostraron que el grupo de las algas mostró mayor sensibilidad a los seis antibióticos. Concluyeron que los resultados obtenidos muestran claramente que existe un riesgo potencial sobre organismos acuáticos expuestos a bajas concentraciones de fármacos en aguas superficiales.

Trabajo como el de Araujo y McNair (2007) donde evaluaron los efectos de 3 antibióticos (sulfato de estreptomina, hidrocloreuro de tetraciclina y tilosina tartrato) a nivel individual y poblacional de *B. calyciflorus* y *B. plicatilis*. Determinando que *B. calyciflorus* tuvo mayor sensibilidad a la exposición de los antibióticos seleccionados.

Iannacone y Alvarino (2009) realizaron una evaluación aguda de siete productos farmacéuticos (amoxicilina, ciprofloxacino, trimetoprima + sulfametoxazol, ibuprofeno, paracetamol y diazepam) sobre *Daphnia magna*. Se determinó la secuencia de ecotoxicidad decreciente en términos de CL50 (mg L⁻¹) a 96 h de exposición, mostrando que el diazepam ocasionó un mayor riesgo, sin embargo concluyen que no se puede excluir el efecto potencial de la toxicidad crónica en el ambiente de estos fármacos.

Zalewski y Wagner (2011) probaron que la exposición de antibióticos en forma de mezcla (neomicina sulfato, estreptomina sulfato, penicilina G y tetraciclina) alteró el crecimiento y las respuestas reproductivas de *Daphnia magna* debido a los cambios en la calidad del alimento.

Dado los pocos trabajos realizados y la toxicidad de esos compuestos se requiere de evaluar los posibles efectos que puedan provocar en organismos acuáticos.

JUSTIFICACIÓN

Se conoce que los organismos del plancton son más sensibles a distintos fármacos y son considerados excelentes indicadores en pruebas de toxicidad. De estos, los rotíferos son ampliamente utilizados como organismos de bioensayo para evaluar tóxicos en efluentes, los cuales pueden contener diversas sustancias, como son, los fármacos. Ciertas especies de la familia Brachionidae ya han sido utilizadas como organismos de bioensayo ya que son consideradas fundamentales para realizar monitoreos de contaminación en cuerpos de agua debido a que son especies altamente sensibles.

Además, es de suma importancia mencionar que la presencia de fármacos en el ambiente puede generar una fuerte amenaza a la salud humana y a la vida silvestre considerando que estos medicamentos son persistentes y no responden a métodos de tratamientos convencionales o biológicos.

A pesar de que las pruebas de toxicidad en rotíferos han sido ampliamente utilizadas, solamente en pocos casos se han evaluado simultáneamente efectos crónicos y agudos de contaminantes. Comparados con las pruebas de toxicidad aguda, los estudios sobre el crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica son relativamente limitados o poco aplicados, por esta razón, son indispensables estas evaluaciones para comprender mejor los efectos de tóxicos en rotíferos.

A pesar de que la mayor parte de las evaluaciones ecotoxicológicas se enfocan principalmente a *Daphnia magna*, una especie de zona templada que no se encuentra de forma natural en cuerpos acuáticos de México; se ha visto que los rotíferos son más sensibles a este tipo de sustancias que cladóceros y algas. Aunque ya han sido utilizadas diversas especies de la familia Brachionidae que son especies ampliamente distribuidas en el país, no han sido realizadas pruebas de toxicidad agudas y crónicas simultáneamente utilizando ibuprofeno y amoxicilina con *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis*.

HIPÓTESIS

Brachionus calyciflorus y *Brachionus havanaensis* son organismos sensibles a sustancias xenobióticas, por lo que su exposición crónica a bajas concentraciones de ambos fármacos seleccionados, ibuprofeno (antiinflamatorio) y amoxicilina (antibiótico) tendrán efectos adversos sobre su historia de vida.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar los efectos sobre la tabla de vida a diferentes concentraciones de dos fármacos seleccionados, ibuprofeno (antiinflamatorio) y amoxicilina (antibiótico) sobre *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis* (Rotífera).

Objetivos particulares

- Evaluar las tendencias y el los efectos que tienen las concentraciones subletales de ambos fármacos de uso común (ibuprofeno y amoxicilina) sobre las variables de historia de vida de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis*
- Cuantificar la tasa de sobrevivencia, tiempo generacional, tasa de crecimiento, tasa reproductiva bruta y neta de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis* sometidos a diferentes concentraciones de los fármacos seleccionados (ibuprofeno y amoxicilina).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron los rotíferos, *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis* los cuales fueron aislados previamente de los canales del Lago de Xochimilco, ubicado en el sur del Distrito Federal, México.

Los organismos colectados, fueron identificados con claves taxonómicas para rotíferos (Koste, 1978). Posteriormente, estas especie se mantuvieron en el laboratorio en condiciones controladas, utilizando como medio EPA, el cual tuvo una dureza moderada y se preparo disolviendo 96 mg de NaHCO₃, 60 mg de CaSO₄, 60 mg de MgSO₄ y 4 mg de KCl por litro de agua destilada (Weber, 1993).

Como alimento se utilizó la microalga *Chlorella vulgaris* la cual se cultivó con el medio basal Bold (Borowitzka y Borowitzka, 1998) y se cosechó cuando alcanzó un crecimiento máximo en sus células. La densidad de las microalgas fue contada utilizando una cámara de Neubauer. *C. vulgaris* fue administrada como alimento para los rotíferos durante su cultivo en laboratorio y durante la fase experimental (Sarma *et al.*, 1997).

El ibuprofeno y la amoxicilina fueron obtenidos de forma comercial (medicamentos genéricos): el ibuprofeno en comprimidos (de 400 mg) y la amoxicilina en forma de suspensión (de 250 mg/ 5 mL).

El ibuprofeno se preparó en una primera concentración de 400 mg L⁻¹, disolviendo la tableta y posteriormente fue aforado a un litro de agua destilada. Esta solución fue agitada vigorosamente para posteriormente realizar las diluciones correspondientes y obtener las concentraciones subletales.

Para preparar las concentraciones de amoxicilina se realizó una primera concentración de 250 mg L⁻¹, disolviendo de la misma manera que con el ibuprofeno.

Se utilizó la concentración letal media (CL₅₀) reportada en bibliografía para ambos fármacos y a partir de este dato se seleccionaron tres concentraciones subletales para realizar las evaluaciones crónicas (tabla de vida) para ambos fármacos.

Posteriormente, se llevaron a cabo los experimentos de tabla de vida para ambas especies de rotíferos (*Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis*). El diseño experimental consistió en un total de 16 contenedores transparentes (con una capacidad de 50 mL). Para cada una de las concentraciones subletales y el control, se realizaron cuatro repeticiones, con una densidad inicial de 1 ind. mL⁻¹; es decir, con una cohorte de 20 neonatos en un volumen de 20 mL. La solución final tuvo una concentración de alimento (*Chlorella vulgaris*) de 1x10⁶ cel mL⁻¹ con medio EPA. Las condiciones bajo las cuales se llevó a cabo el experimento fueron: temperatura de 22 ± 2°C, pH de 7.5 y con luz continua y difusa (Sarma *et al.*, 1997).

Se realizaron los conteos individuales para cada uno de los tratamientos cada 12 horas, además de la cuantificación del número de organismos adultos vivos (de la población inicial) y el número de neonatos. En todos los tratamientos, únicamente aquellos individuos

vivos de la población inicial fueron regresados, y tanto los neonatos como los organismos adultos muertos fueron retirados del experimento.

En todos los tratamientos, se realizó el cambio del medio diario, para renovar el alimento y mantener constante las concentraciones de los fármacos seleccionados durante la fase experimental. Se realizaron los conteos hasta que se observó una mortalidad total de los organismos de la población original.

Para la tabla de vida, se utilizó un método demográfico estandarizado (Krebs, 1985). Con los datos de la evaluación crónica se obtuvo lo siguiente (parámetros demográficos): curvas de supervivencia, curvas de esperanza de vida, variables reproductivas, fecundidad, tasa reproductiva neta y bruta, tiempo generacional y tasa intrínseca de crecimiento poblacional.

- **Sobrevivencia** (Proporción de sobrevivientes) $l_x = \frac{n_x}{n_0}$

Donde: n_x = sobrevivientes

n_0 = número inicial de individuos

- **Fecundidad** (Proporción de neonatos) $m_x = \frac{n_1}{n_x}$

Donde: n_1 = número de neonatos

n_x = sobrevivientes

- **Esperanza de vida** $e_x = \frac{T_x}{n_x}$

Donde: T_x = Promedio de vida

n_x = sobrevivientes

- **Tasa reproductiva bruta** $\sum m_x$

Donde: m_x = fecundidad

- **Tasa reproductiva neta** $R_0 = \sum_0^{\infty} l_x \cdot m_x$

Donde: l_x = supervivencia

m_x = fecundidad

- **Tiempo generacional**

Donde: l_x = supervivencia

m_x = fecundidad

x = edad

R_o = Tasa reproductiva neta

$$T = \frac{\sum l_x \cdot m_x \cdot x}{R_o}$$

- **Tasa de crecimiento poblacional**

$$r = \sum_{x=0} e^{-rx} l_x m_x = 1$$

Donde: $e= 2.718$

x = edad

l_x = supervivencia

m_x = fecundidad

Los cambios significativos en la tabla de vida de los organismos fueron evaluados mediante un análisis de varianza de una vía (ANDEVA), utilizando el programa Sigma Plot versión 11. Por último se realizó la prueba de post-hoc de Tukey para verificar entre cuales de los tratamientos existieron diferencias significativas.

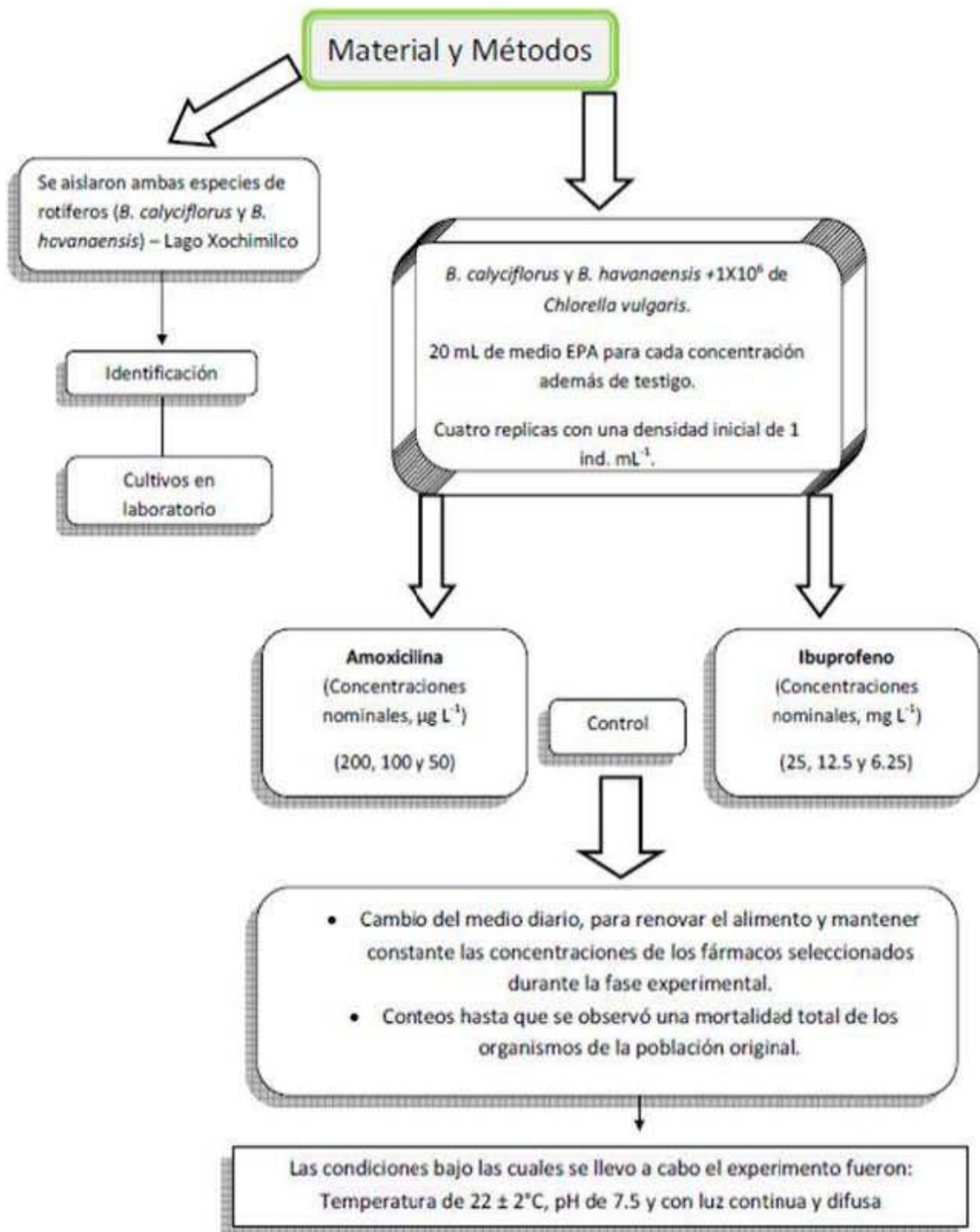


Imagen 3. Diagrama de flujo material y métodos.

RESULTADOS

Brachionus calyciflorus (amoxicilina)

La sobrevivencia de *Brachionus calyciflorus* en el testigo fue más alta a diferencia de los demás tratamientos en donde estaba expuesto a amoxicilina. La sobrevivencia en el testigo alcanzó al día 19 a diferencia de la concentración más alta ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) en donde únicamente alcanzó hasta el día 14. En general se observó una disminución gradual de las demás concentraciones conforme al aumento de concentración del antibiótico (Figura 1).

En cuanto a la esperanza de vida edad específica, se observa el valor más alto en el testigo en donde alcanzó hasta el día 19, sin embargo al aumento de los tratamientos en donde contenían el antibiótico la esperanza de vida decreció drásticamente, sobre todo a la concentración más alta (Figura 2).

B. calyciflorus mostró una distribución estable por edades más alta en el testigo, sin embargo se observó una disminución de la misma sobre todo en la concentración más alta de amoxicilina ($200 \mu\text{g L}^{-1}$). La distribución estable por edades en los tratamientos que contenían amoxicilina se vio disminuida sobre todo en los primeros 5 días en comparación al testigo (Figura 3). En la concentración más alta del antibiótico se observó un fuerte decremento en la distribución estable por edades en comparación con el testigo.

Para fecundidad, se observó el valor y el periodo de reproducción más alto en el testigo (Figura 4). Todas las réplicas muestran que, tanto al principio como al final, la reproducción fue baja independientemente del tratamiento. El periodo reproductivo fue más largo para el testigo abarcando la semana 2 y 3, sin embargo al aumentar la concentración de amoxicilina *B. calyciflorus* tuvo una disminución en el periodo de reproducción.

Tanto el valor reproductivo como el valor residual de *B. calyciflorus* (Figuras 5 y 6), se vieron afectados adversamente con la presencia de amoxicilina en el medio. El valor más alto para valor reproductivo y residual reproductivo se observó en el testigo; sin embargo, fue decreciendo gradualmente con el aumento de las concentraciones del antibiótico. En el testigo se observó una disminución en la descendencia de *B. calyciflorus* en el valor reproductivo y residual reproductivo a partir del día 6.

B. calyciflorus mostró el valor más alto de promedio de vida en el testigo a comparación de los demás tratamientos en donde fue expuesto a amoxicilina. El promedio de vida para *B. calyciflorus* fue decreciendo conforme al aumento de la concentración de amoxicilina en el medio. Los datos muestran un rango de promedio de vida de 12 a 9 días (Tabla 1). Estadísticamente se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos en donde el medio contenía el antibiótico con respecto a testigo (Prueba Tukey $P < 0.05$). También se observaron diferencias significativas entre $50 \mu\text{g L}^{-1}$ y las últimas dos concentraciones de amoxicilina ($P < 0.05$).

En cuanto a esperanza de vida, *B. calyciflorus* refleja una disminución en días conforme al aumento de la concentración de amoxicilina. Los datos muestran el valor más alto (12 días) para esperanza de vida en el testigo (Tabla 1). El rango de *B. calyciflorus* para esta variable fue de 8 a 12 días. Se observaron diferencias significativas en la esperanza de vida del rotífero en todos los tratamientos que contenían amoxicilina con respecto al testigo. Los datos muestran diferencias significativas en 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ con respecto a 100 y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, sin embargo no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones más altas del antibiótico (100 y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$).

La tasa de reproducción bruta más alta para *B. calyciflorus* se observó en el testigo en comparación a los demás tratamientos en donde se expuso a amoxicilina (Figura 7). Se observó un decremento en la reproducción del rotífero al aumentar la concentración del antibiótico en el medio. El rango de los valores obtenidos para la tasa de reproducción bruta van de 15 a 22 neonatos hembra⁻¹). Estadísticamente se observaron únicamente diferencias significativas en las concentraciones más altas (100 y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$) con respecto al testigo, sin embargo no se observó un efecto negativo en la concentración más baja (50 $\mu\text{g L}^{-1}$). Por otra parte, los datos también muestran las diferencias significativas entre los tratamientos, aunque no existió un efecto significativo entre 100 y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$.

En el tiempo generacional de *B. calyciflorus* se observó una tendencia de disminución al aumentar la concentración de amoxicilina en el medio de los tratamientos en donde fue expuesto (Figura 7). El valor más alto en cuanto a tiempo generacional se observó en el testigo a los 9 días. Los valores en esta variable estuvieron en un rango de 6 a 9 días dependiendo de los tratamientos (Tabla 1). Por otra parte, se observaron diferencias significativas para *B. calyciflorus* en todos los tratamientos con respecto a testigo. Entre los tratamientos de amoxicilina, se observaron efectos significativos en 100 y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ con respecto a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, sin embargo no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las últimas dos concentraciones.

B. calyciflorus mostró una tasa de reproducción neta más alta en el testigo (33 neonatos-hembra⁻¹) a comparación de las demás concentraciones de amoxicilina. Se observó un decremento en la reproducción del rotífero al aumentar la concentración del antibiótico en el medio con respecto a testigo. Los valores de la tasa de reproducción neta varían entre 24 y 33 neonatos hembra⁻¹). Los datos muestran efectos significativos en todos los tratamientos que contenían amoxicilina en el medio con respecto al testigo (Tabla 1). Sin embargo, estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos, independientemente de la concentración del antibiótico.

El valor de la tasa intrínseca de incremento poblacional para *B. calyciflorus* fue más alto en el testigo con respecto a las demás concentraciones de amoxicilina. En general se observó una tendencia similar en el testigo con respecto a los tratamientos en donde contenían amoxicilina en el medio. El valor de r varió entre 0.63 a 0.68 por día dependiendo de los tratamientos (Tabla 1). Sin embargo, estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de amoxicilina con respecto a testigo, ni entre cada uno de los tratamientos ($p > 0.05$).

***Brachionus calyciflorus* (ibuprofeno)**

B. calyciflorus mostró una tendencia de sobrevivencia más alta en el testigo en comparación a los demás tratamientos en donde fue expuesto a ibuprofeno. En general se observó una disminución de la sobrevivencia del rotífero conforme a la edad y al aumento de las concentraciones del analgésico. Los valores de sobrevivencia fueron en un rango de 16 a 20 días dependiendo de los tratamientos. La población comenzó a decrecer a partir del día 10 en testigo a diferencia de las demás concentraciones en donde comenzó a disminuir a partir del día 7 aproximadamente (figura 9).

En general se observó una tendencia de decremento gradual de la esperanza de vida edad específica de *B. calyciflorus* al aumentar la concentración de ibuprofeno. Los valores de esperanza de vida variaron dependiendo de los tratamientos (16 a 19 días), en donde el valor más alto se observó en el testigo (figura 10).

En cuanto a la distribución estable por edades, *B. calyciflorus* mostró el valor más alto en el testigo a comparación de las concentraciones del analgésico. Así mismo, se observó una disminución de la distribución estable por edades al aumentar la concentración de los tratamientos que contenían ibuprofeno, sobre todo en las concentraciones más elevadas (12.5 y 25 mg L⁻¹). Las gráficas (figura 11) muestran el efecto negativo del analgésico sobre el rotífero, dentro de los primeros cuatro días, así mismo se observó mayor efecto en la concentración más alta (25 mg L⁻¹).

En cuanto a fecundidad edad específica, *B. calyciflorus* mostró tener los valores y el periodo de reproducción más altos en testigo (3 neonatos hembra día⁻¹), a diferencia de los demás tratamientos en donde fueron expuestos a ibuprofeno. Se observó una reproducción baja al principio y al final del experimento independientemente de los tratamientos. El periodo reproductivo del rotífero fue más largo en testigo a comparación de la más alta concentración (25 mg L⁻¹) en donde únicamente alcanzó hasta el día 16 (figura 8).

Tanto en valor reproductivo como en valor residual reproductivo (figuras 12 y 13), se observó una tendencia de disminución de la reproducción de *B. calyciflorus* al aumentar las concentraciones de ibuprofeno en el medio. Tanto la potencialidad como el valor real se vieron disminuidos con la presencia del fármaco, independientemente de la concentración. El valor más alto en el caso de ambas variables reproductivas se observó en testigo, a diferencia de los demás tratamientos con ibuprofeno. En las gráficas tanto de valor reproductivo como residual reproductivo se observó un fuerte decremento sobre todo en las concentraciones más elevadas (12.5 y 25 mg L⁻¹).

El promedio de vida de *B. calyciflorus* cuando fue expuesto a ibuprofeno, decreció al aumentar la concentración del mismo. Los valores de promedio de vida estuvieron en un rango de 10 a 12 días dependiendo del tratamiento. El valor más alto en cuanto a promedio de vida fue obtenido por el testigo (12 días) en comparación con la concentración más elevada (25 mg L⁻¹) que fue de 10 días. Estadísticamente se observaron diferencias significativas únicamente en las concentraciones más elevadas (12 y 25 mg L⁻¹) con respecto al testigo, sin embargo en la concentración de 6.25 mg L⁻¹ no se observó un efecto

negativo. Por otra parte, la gráfica muestra diferencias significativas entre los tratamientos que contenían ibuprofeno, sin embargo no se observaron efectos significativos entre 12.5 y 25 mg L⁻¹ (Tabla 1)

La esperanza de vida de *B. calyciflorus* cuando fue expuesto a ibuprofeno fue afectada de manera adversa, sobre todo al aumentar la concentración del fármaco. Los valores de esta variable, estuvieron entre 10 y 12 días, en la concentración más alta (25 mg L⁻¹) y en el testigo, respectivamente. Se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos que contenían ibuprofeno con respecto al testigo, sin embargo no se observó algún efecto en la primer concentración (6.25 mg L⁻¹). Entre los tratamientos, la gráfica (ver figura 14) muestra diferencias significativas en la primera concentración con respecto a las concentraciones más elevadas, sin embargo no se observaron efectos significativos entre estos dos últimos tratamientos (12.5 y 25 mg L⁻¹).

La tasa de reproducción bruta para *B. calyciflorus*, tuvo una tendencia a disminuir a medida que aumentó la concentración del analgésico. Los valores de reproducción variaron entre 24.8±1.6 a 35.1±0.9 neonatos hembra⁻¹ día⁻¹, dependiendo del tratamiento (Tabla 1). Diferencias significativas fueron observadas en el tratamiento con la concentración más alta de ibuprofeno (25 mg L⁻¹) con respecto a testigo. Por otra parte, entre los tratamientos únicamente se observó efectos significativos entre las dos primeras concentraciones con respecto a la más alta. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre 6.25 y 12.5 mg L⁻¹(p>0.05).

En el tiempo generacional de *B. calyciflorus* se observa un decremento al aumentar la concentración de ibuprofeno independientemente de las réplicas. El valor más alto se observó para el testigo (7.4±0.1 días) y el valor más bajo (6.1±0.1 días) se obtuvo en la concentración más elevada (25 mg L⁻¹). La gráfica muestra diferencias significativas en la concentración más elevada con respecto a testigo (Figura 14). Sin embargo, no se observan efectos significativos en las concentraciones de 6.25 y 12.5 mg L⁻¹ con respecto a testigo. Por otra parte, no se muestran diferencias significativas entre las dos primeras concentraciones, aunque si existen con respecto a la concentración más elevada de ibuprofeno.

En la tasa de reproducción bruta se observa un decremento sobre todo en las concentraciones más elevadas del fármaco a las cuales fue expuesto *B. calyciflorus*. Los valores para la tasa de reproducción neta van de 15.4±0.6 a 21.8±1.6 neonatos hembra⁻¹ día⁻¹ en 25 mg L⁻¹ de ibuprofeno y el testigo, respectivamente (Tabla 1). Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos que contenían el fármaco con respecto al testigo, excepto en 6.25 mg L⁻¹. En cuanto a cada uno de los tratamientos se observaron diferencias significativas únicamente con respecto a la primera concentración, sin embargo entre las dos concentraciones más elevadas no se observaron efectos significativos.

En cuanto a la tasa intrínseca de crecimiento poblacional para *B. calyciflorus*, no se observa una tendencia negativa al aumentar la concentración, de ibuprofeno. El rango varió entre 0.68 ± 0.01 a 0.72 ± 0.01 por día. En general, se observó una tendencia similar con respecto a testigo (Figura 14). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones del analgésico con respecto al testigo, ni entre cada uno de los tratamientos.

***Brachionus havanaensis* (amoxicilina)**

La sobrevivencia edad específica para *B. havanaensis* tuvo un decremento fuerte al aumentar la concentración de amoxicilina, sobre todo cuando fue expuesto a la más alta concentración (Figura 22). El valor más alto fue obtenido en el testigo alcanzando hasta el día 21 de sobrevivencia, sin embargo cuando fue expuesto a la concentración más elevada (25 mg L^{-1}) únicamente sobrevivió hasta el día 16. En general se observó una disminución gradual de la sobrevivencia en las concentraciones intermedias, sin embargo en la concentración más elevada de amoxicilina se observó un decremento de casi el 30% de la población.

Las curvas de esperanza de vida edad específica de *B. havanaensis* cuando fue expuesto a amoxicilina muestran una tendencia a disminuir conforme aumenta la concentración del fármaco. El valor más alto de esperanza de vida se observa en testigo a diferencia de los demás tratamientos (Figura 23). Por otra parte, se observa un decremento gradual en las concentraciones intermedias de amoxicilina y un decremento drástico en la concentración más alta ($100 \mu\text{g L}^{-1}$).

B. havanaensis tuvo una distribución estable por edades normal en el testigo, sin embargo se observa un efecto negativo en los tratamientos que contenían amoxicilina. En general se observó un decremento de la distribución estable por edades conforme aumentaba la concentración del antibiótico. A diferencia de testigo, se observó un efecto negativo dentro de los primeros 4 días en los tratamientos con amoxicilina. En la concentración más alta del antibiótico se observó un fuerte decremento en la distribución estable por edades en comparación con el testigo (Figura 24).

Para fecundidad, se observó el valor y el periodo de reproducción más alto en el testigo (aproximadamente $3 \text{ neonatos hembra}^{-1} \text{ día}^{-1}$). Independientemente de las réplicas, se observa que, tanto al principio como al final, la reproducción fue baja en cada tratamiento. El periodo reproductivo fue más largo en testigo, abarcando la semana 2 y 3, aunque al aumentar la concentración de amoxicilina para *B. havanaensis*, se observó una disminución en el periodo reproductivo obteniendo un valor aproximadamente de $2 \text{ neonatos hembra}^{-1} \text{ día}^{-1}$ en las concentraciones más elevadas (Figura 21).

En cuanto al valor reproductivo como el valor residual reproductivo de *B. havanaensis*, se vieron afectados adversamente con la presencia de amoxicilina en el medio. El valor más alto para valor reproductivo y residual se observó en el testigo; sin embargo, este fue decreciendo gradualmente con el aumento de las concentraciones del antibiótico. En el testigo, se observó una disminución en la descendencia de *B. havanaensis* en el valor reproductivo y residual a partir del día 6. Hubo un decremento fuerte para la población de rotíferos cuando fue expuesto a $200 \mu\text{g L}^{-1}$ (Figuras 25 y 26).

El promedio de vida de *B. havanaensis* cuando fue expuesto a amoxicilina decreció con el aumento en las concentraciones. Los valores de promedio de vida para el rotífero fueron de 9 ± 0.1 a 11.5 ± 0.1 días en la concentración más alta ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) y en testigo respectivamente (Tabla 2). Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos

que contenían el antibiótico con respecto al testigo. En el tratamiento que contenía la concentración más baja del antibiótico, no se observaron diferencias significativas con respecto a testigo. Por otra parte, se observaron efectos significativos entre cada uno de los tratamientos que contenían amoxicilina en el medio.

El valor más alto fue obtenido en el testigo en esperanza de vida para *B. havanaensis* (11 ± 0.1 días). Esta variable mostró una tendencia de disminución de la población al aumentar la concentración de amoxicilina. Los valores de esperanza de vida variaron entre 8.5 ± 0.1 días, obtenido en la concentración más alta del antibiótico, a 11 ± 0.1 días obtenido en el testigo (Tabla 2). Estadísticamente se observaron diferencias significativas en los últimos dos tratamientos con respecto al testigo. Sin embargo, en la concentración más baja ($50 \mu\text{g L}^{-1}$), se observó una tendencia muy similar a testigo. Por otra parte, los datos muestran que hubo efectos significativos entre cada uno de los tratamientos (Figura 27).

La tasa de reproducción bruta de *B. havanaensis* fue drásticamente reducida independientemente de la concentración de amoxicilina en el medio (Figura 27). Los valores de esta variable están en un rango de 18.6 ± 0.9 a 39.8 ± 0.3 neonatos hembra⁻¹. Se observaron diferencias significativas en los tratamientos que contenían el antibiótico en el medio con respecto al testigo. Sin embargo entre cada uno de las concentraciones, no se observaron diferencias significativas, por el contrario tuvieron una tendencia muy similar independientemente del aumento de la concentración de amoxicilina.

El tiempo generacional de *B. havanaensis* fue disminuido drásticamente cuando fue expuesto a la concentración más elevada de amoxicilina. Se observó una tendencia muy similar en las primeras dos concentraciones (50 y $100 \mu\text{g L}^{-1}$) con respecto a testigo (Figura 27). El tiempo generacional varió entre 6.9 ± 0.05 a 7.1 ± 0.1 días, en la más alta concentración ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) y en el testigo, respectivamente (ver tabla 2). Estadísticamente no se observaron diferencias significativas en testigo con respecto a las primeras dos concentraciones, únicamente cuando *B. havanaensis* fue expuesto a la más alta concentración. Entre cada uno de los tratamientos que contenían el antibiótico, se observó una tendencia similar, obteniendo diferencias significativas únicamente en las dos primeras concentraciones con respecto a la más elevada concentración.

En cuanto a la tasa de reproducción neta, se observó un decremento fuerte al aumentar la concentración del antibiótico en el medio (Figura 27). Independientemente de la concentración de amoxicilina en el medio al que fue expuesto *B. havanaensis*, se observó una disminución en la población. Los valores de reproducción variaron entre 8.3 ± 0.1 a 23.1 ± 0.3 neonatos hembra⁻¹ esperanza de vida. En esta variable, se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos con respecto al testigo. Por otra parte, también entre cada uno de los tratamientos que contenían amoxicilina en el medio se observaron efectos significativos.

A diferencia del testigo, la tasa intrínseca de incremento poblacional fue drásticamente disminuida independientemente de la concentración de amoxicilina a la que fue expuesto *B. havanaensis* (Figura 27). El valor de r por día más alto (0.89 ± 0.01) fue obtenido en el testigo, mientras que en la concentración más elevada se obtuvo el valor más bajo (0.38 ± 0.01). Estadísticamente se observaron diferencias en todos los tratamientos que

contenían amoxicilina en el medio con respecto al testigo (Tabla 2). Sin embargo entre cada una de las concentraciones del antibiótico, no se observaron diferencias significativas, por el contrario mostraron una tendencia similar.

***Brachionus havanaensis* (ibuprofeno)**

Se observó una disminución drástica en la sobrevivencia de *B. havanaensis* cuando fue expuesto a ibuprofeno, independientemente de la concentración (Figura 16). En el testigo se observó la mayor sobrevivencia de *B. havanaensis* en donde hubo un decremento de la población a partir del día 6. Sin embargo en los demás tratamientos que contenían el analgésico en el medio, la población decayó drásticamente a partir del día 4 aproximadamente. Las curvas muestran que la sobrevivencia del rotífero tuvo un efecto adverso, sobre todo en la concentración más elevada (25 mg L⁻¹) en donde la variable disminuyó cerca del 40%.

La esperanza de vida edad específica de *B. havanaensis* fue afectada adversamente con la presencia de ibuprofeno en el medio, independientemente de la concentración. Se observó un decremento gradual de la esperanza de vida del rotífero en las concentraciones intermedias, sin embargo en la más elevada concentración de ibuprofeno, hubo una fuerte disminución de la población (Figura 17).

Las curvas de distribución estable por edades en general muestran disminución con el aumento de la concentración de ibuprofeno en el medio. Testigo mostro una tendencia normal de distribución estable por edades. A diferencia de testigo, los efectos negativos se observaron en los primeros cuatro días independientemente de las concentraciones del analgésico en el medio (Figura 18).

B. havanaensis mostró una fecundidad edad específica alta (3 neonatos hembra⁻¹ día⁻¹) en el testigo a comparación de los demás tratamientos que contenían ibuprofeno en el medio (Figura 15). Se muestra una tendencia de disminución de la fecundidad del rotífero con el aumento de las concentraciones del analgésico. En todas las concentraciones de ibuprofeno, se observó una disminución gradual de la fecundidad. Independientemente de las replicas, se observó que, tanto al principio como al final del experimento, la reproducción fue baja en los tratamientos, incluyendo testigo. El periodo reproductivo fue más largo en el testigo, abarcando aproximadamente la semana 2 y 3; sin embargo, al aumentar la concentración de ibuprofeno para *B. havanaensis*, se observó una disminución en el periodo reproductivo (14 días).

El valor reproductivo y el valor residual reproductivo de *B. havanaensis* disminuyeron con el aumento de las concentraciones de ibuprofeno en el medio (Figura 19 y 20). El potencial y el valor real de la población se vieron afectados independientemente de la concentración del analgésico. El testigo obtuvo el valor más alto para ambas variables a diferencia de los demás tratamientos que contenían ibuprofeno. En las concentraciones intermedias se observó una disminución gradual en *B. havanaensis*. Sin embargo tanto en el valor reproductivo como en el valor residual reproductivo, se observó un decremento significativamente drástico en la concentración más elevada (25 mg L⁻¹).

En general el promedio de vida de *B. havanaensis* cuando fue expuesto a ibuprofeno mostró una tendencia a disminuir con el aumento de la concentración del analgésico en el medio (Figura 21). El valor más alto fue obtenido por el testigo (11.5±0.1 días) a diferencia

de los demás tratamientos con ibuprofeno. Para esta variable, los valores para promedio de vida se encontraron en un rango de 5.5 ± 0.1 a 11.5 ± 0.1 días dependiendo de los tratamientos. Estadísticamente se observaron diferencias significativas en la concentración de 25 mg L^{-1} con respecto a testigo (Tabla 2). Sin embargo, en las primeras concentraciones (6.25 y 12.5 mg L^{-1}) se muestra una tendencia similar al testigo y por tanto no se encontraron efectos significativos. El análisis estadístico de comparaciones múltiples indicó que únicamente existen diferencias significativas entre las primeras dos concentraciones con respecto a la concentración más elevada (25 mg L^{-1}).

La esperanza de vida de *B. havanaensis* fue más alta en el testigo que en los demás tratamientos de ibuprofeno en el medio (Figura 21). En general, se observó una disminución gradual de la esperanza de vida con el aumento de las concentraciones del analgésico. El rango de los valores para esta variable fue de 5.0 ± 0.1 a 11.5 ± 0.1 días dependiendo de los tratamientos. Estadísticamente se muestran diferencias significativas únicamente en el tratamiento con la más alta concentración de ibuprofeno en el medio (25 mg L^{-1}) con respecto al testigo. Por otra parte, se observa que en las dos primeras concentraciones (6.25 y 12.5 mg L^{-1}) muestra una tendencia similar a testigo y por ende no se encuentran diferencias significativas. También, se puede observar que solamente existen diferencias significativas entre 25 mg L^{-1} con respecto a las primeras concentraciones.

En el testigo se observó el valor más alto para la tasa de reproducción bruta obtenida para *B. havanaensis*. Sin embargo, también se observó un decremento con el aumento de los tratamientos que contenían ibuprofeno en el medio. Los valores de reproducción variaron entre 19.4 ± 2.2 a 39.8 ± 03 neonatos hembra⁻¹ dependiendo de los tratamientos. Se muestra un efecto negativo en todos los tratamientos que contenían ibuprofeno en el medio independientemente de la concentración. Por lo tanto, Existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en todos los tratamientos con respecto a testigo. Por otra parte, entre cada uno de los tratamientos se observó únicamente efectos significativos entre las primeras dos concentraciones (6.25 y 12.5 mg L^{-1}) con respecto a la más alta (25 mg L^{-1}). Aunque no mostraron diferencias significativas entre los primeros dos tratamientos (Figura 21).

El tiempo generacional de *B. havanaensis* fue disminuido drásticamente sobre todo en la concentración más elevada de ibuprofeno. De manera general, se observó un decremento gradual con el aumento de los tratamientos que contenían el analgésico en el medio. En cuanto a los valores, se observa una variación entre 3.8 ± 0.3 a 7.1 ± 0.1 días dependiendo de cada tratamiento. Estadísticamente se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos con respecto a testigo. Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre 6.25 y 12.5 mg L^{-1} , aunque si se muestran efectos significativos con respecto a la más elevada concentración de ibuprofeno (Tabla 2).

Referente a la tasa de reproducción neta de *B. havanaensis* se observó un fuerte decremento independientemente de la concentración de ibuprofeno en el medio (Figura 21). En general, la reproducción de *B. havanaensis* disminuyo con el aumento del analgésico. En el testigo obtuvo el valor reproductivo más alto (23.1 ± 0.1 neonatos/hembra) mientras que el valor más bajo (9.0 ± 0.2 neonatos hembra⁻¹) fue obtenido por el tratamiento que contenía la más alta concentración de ibuprofeno (25 mg L^{-1}). Se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos con respecto al testigo. Sin embargo, no existieron efectos

significativos entre las primeras dos concentraciones y únicamente existieron con respecto a 25 mg L⁻¹.

La tasa intrínseca de crecimiento poblacional de *B. havanaensis* en general fue afectada con la presencia de ibuprofeno en el medio. Se observó una disminución gradual del valor de r por día con el incremento del analgésico. El valor de incremento poblacional más alto fue obtenido por testigo ($0.89 \pm 0.0 r \text{ día}^{-1}$) mientras que el valor más bajo ($0.78 \pm 0.0 r \text{ día}^{-1}$) fue obtenido por el tratamiento que contenía la concentración más elevada de ibuprofeno en el medio. Se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos de ibuprofeno excepto en la concentración más baja (6.25 mg L⁻¹) con respecto a testigo. Por otra parte, estadísticamente, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones más elevadas, sin embargo si se observaron con respecto a 6.25 mg L⁻¹ del analgésico (Figura 21).

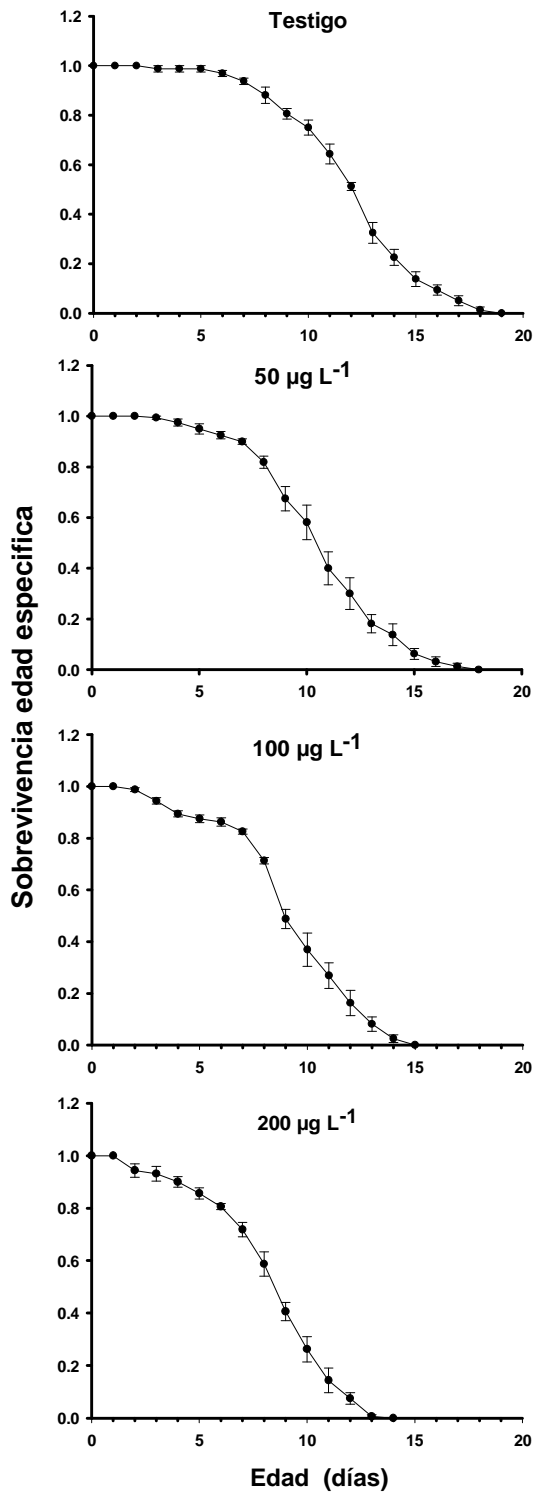


Fig. 1. Sobrevivencia edad específica (l_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

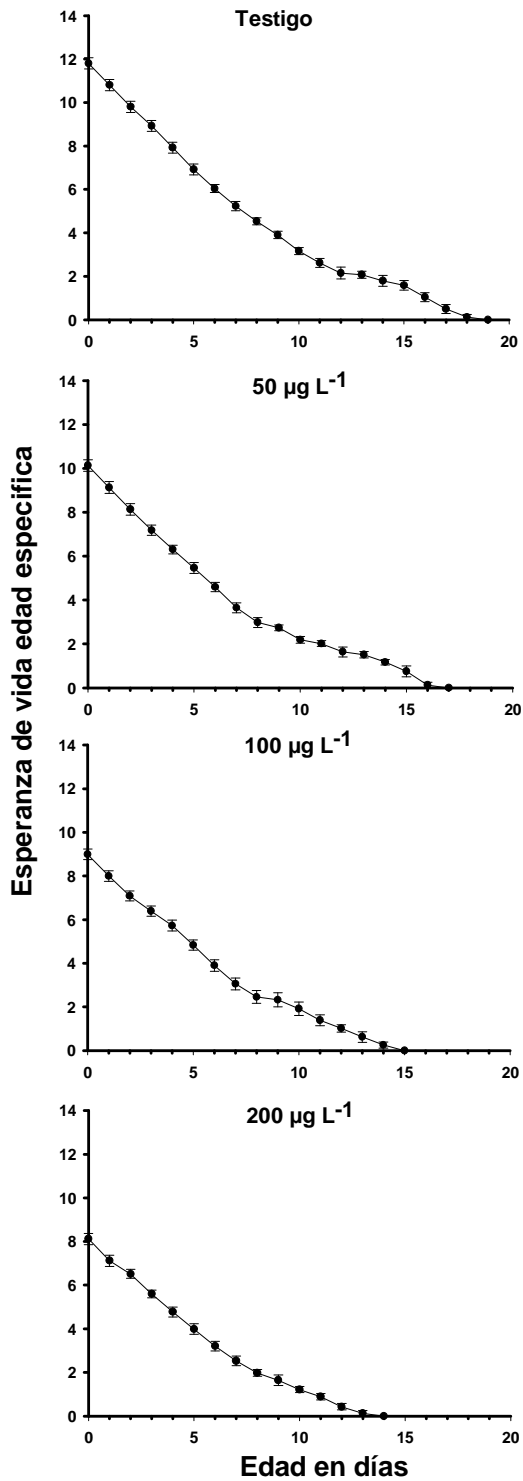


Fig. 2. Esperanza de vida edad específica (E_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

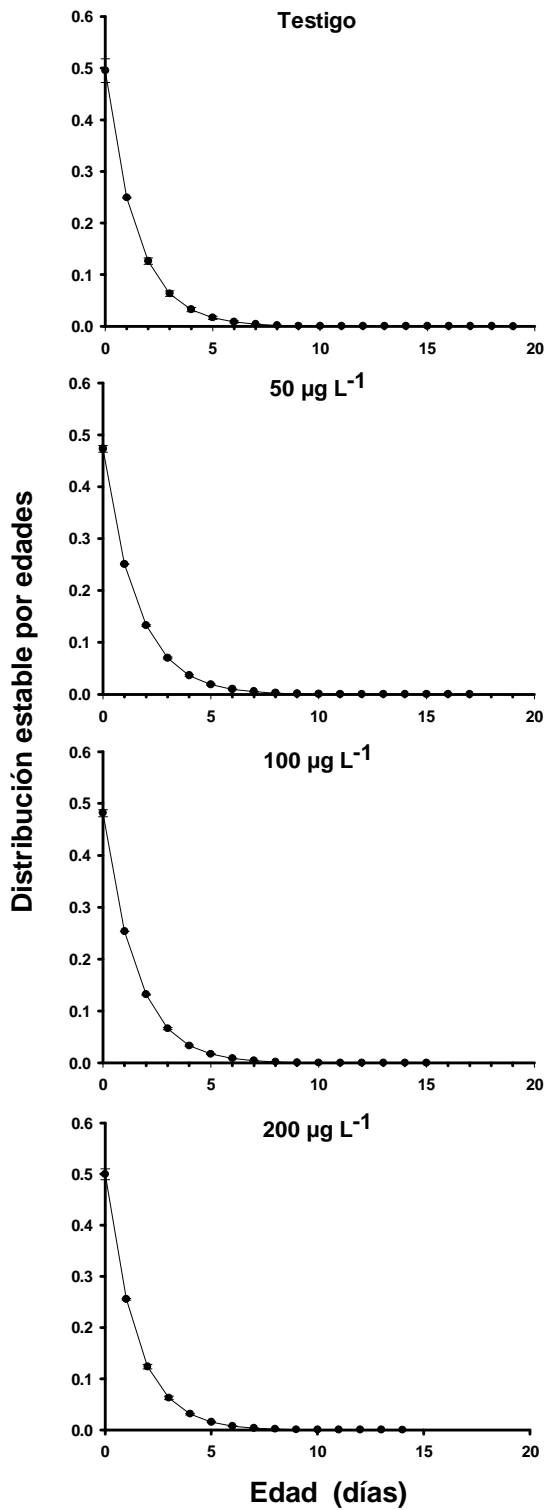


Fig. 3. Distribución estable por edades (C_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

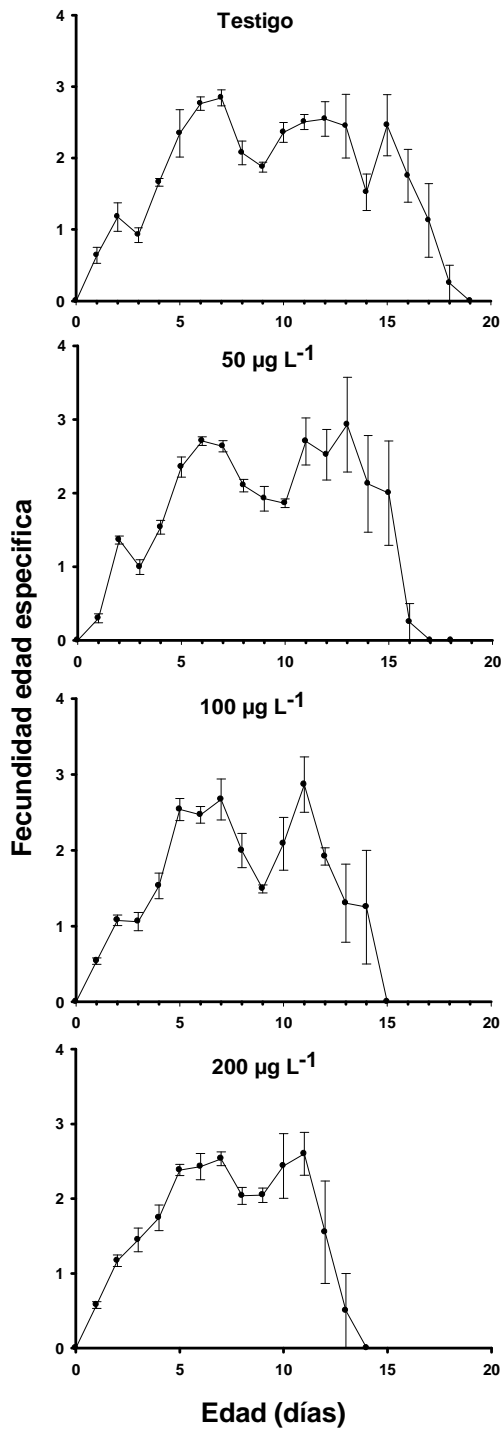


Fig. 4. Fecundidad edad específica (m_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

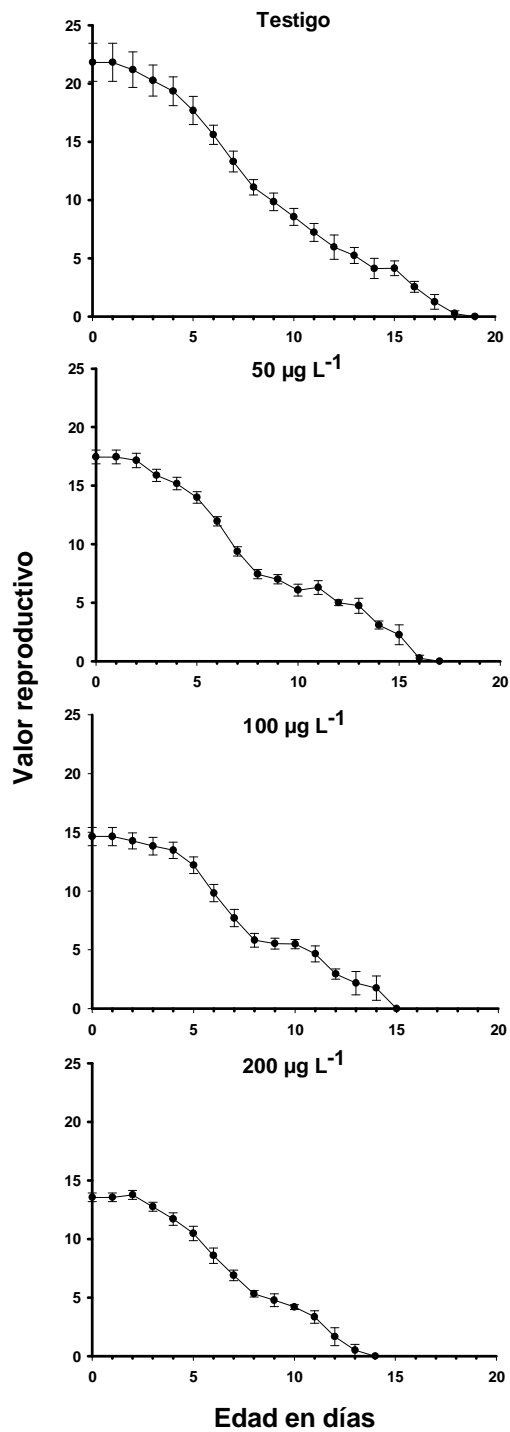


Fig. 5. Valor reproductivo (V_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

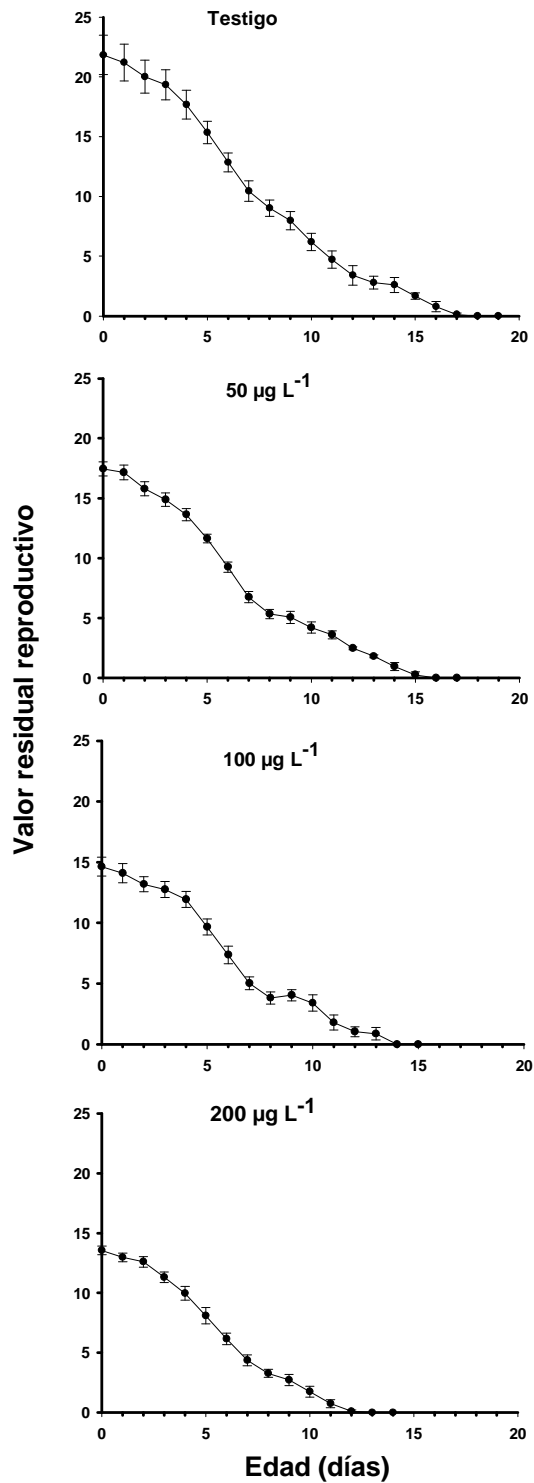


Fig. 6. Valor reproductivo residual (v_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

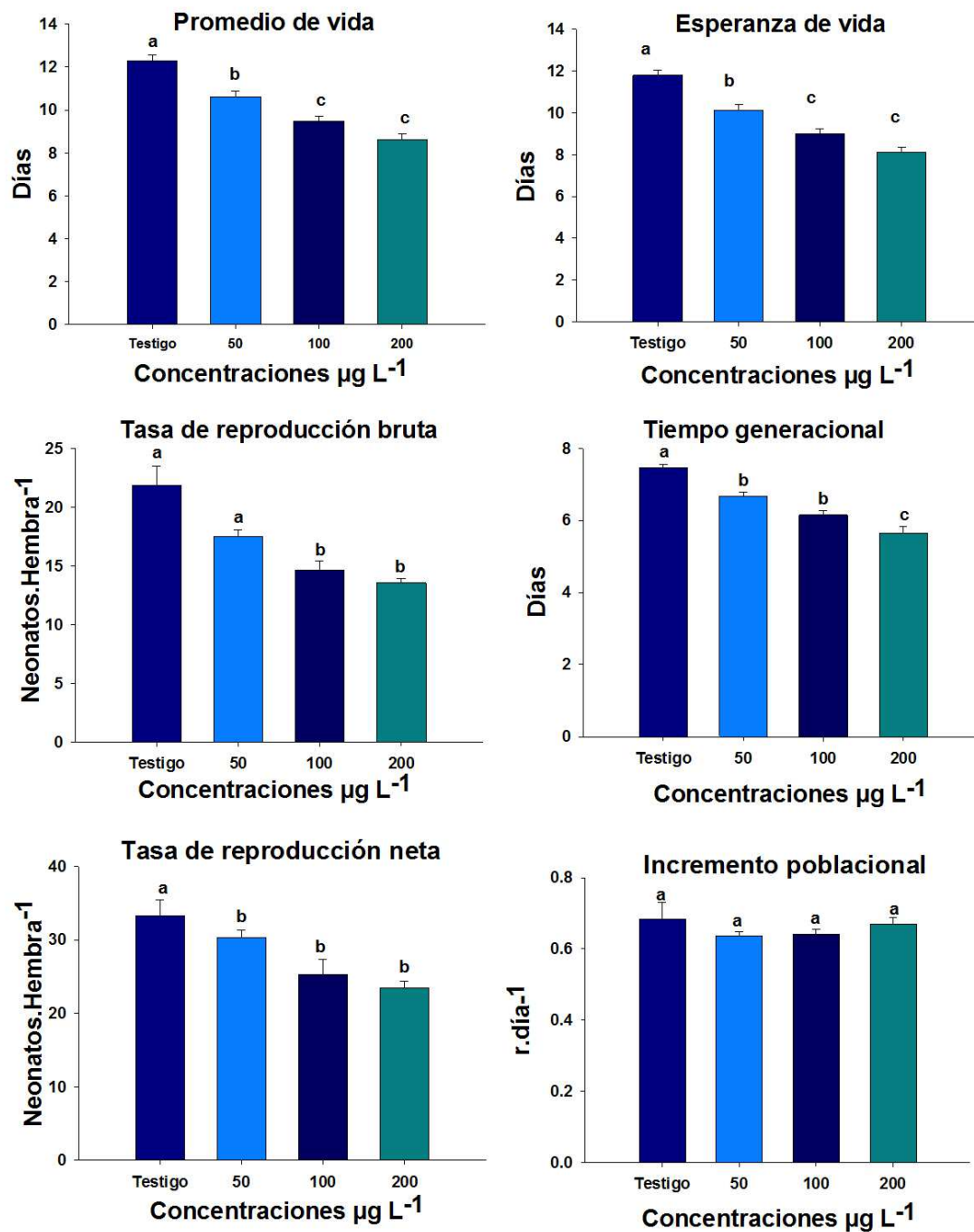


Fig. 7. Variables demográficas de tabla de vida demográfica de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones (cohorte) \pm error estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$), prueba Tukey.

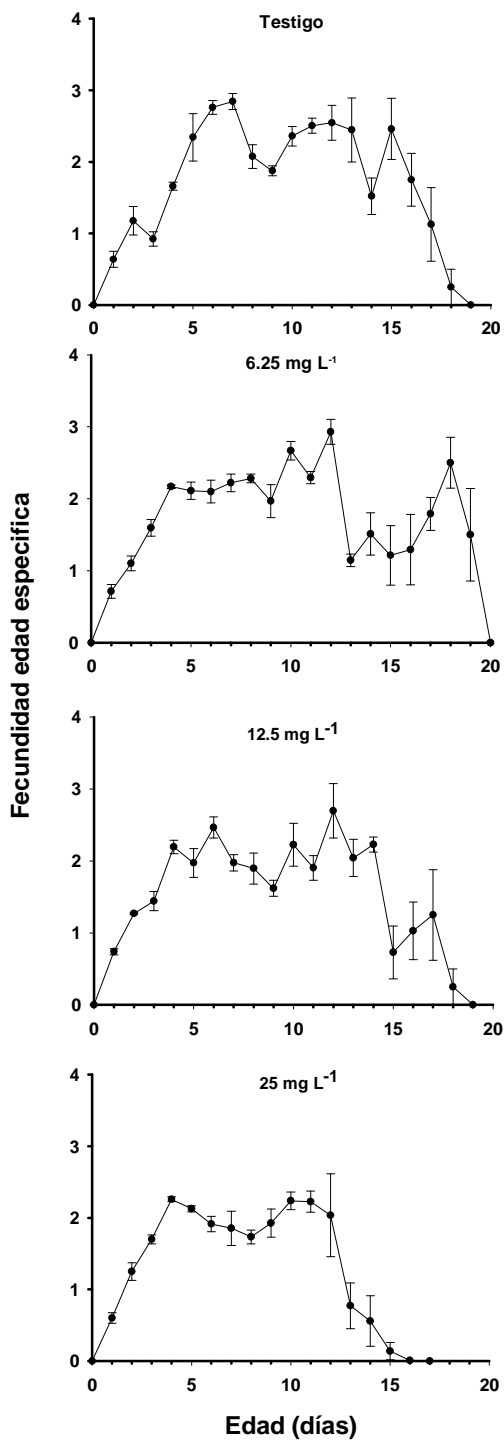


Fig. 8. Fecundidad edad específica (m_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

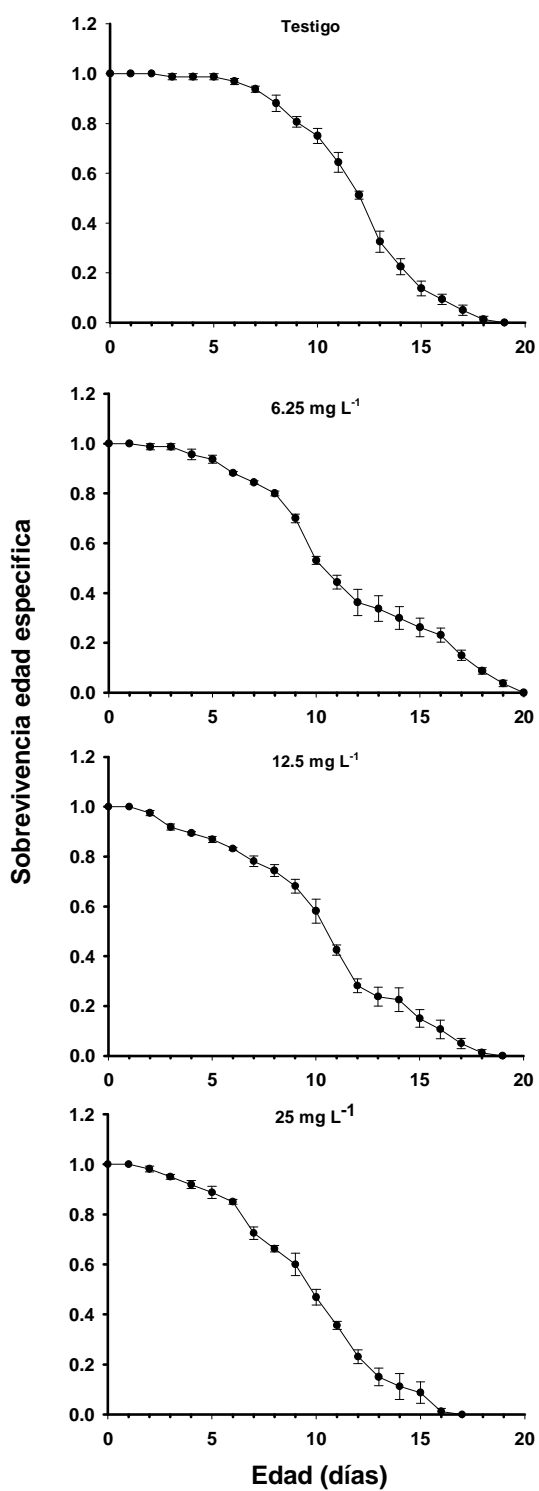


Fig. 9. Sobrevivencia edad específica (l_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

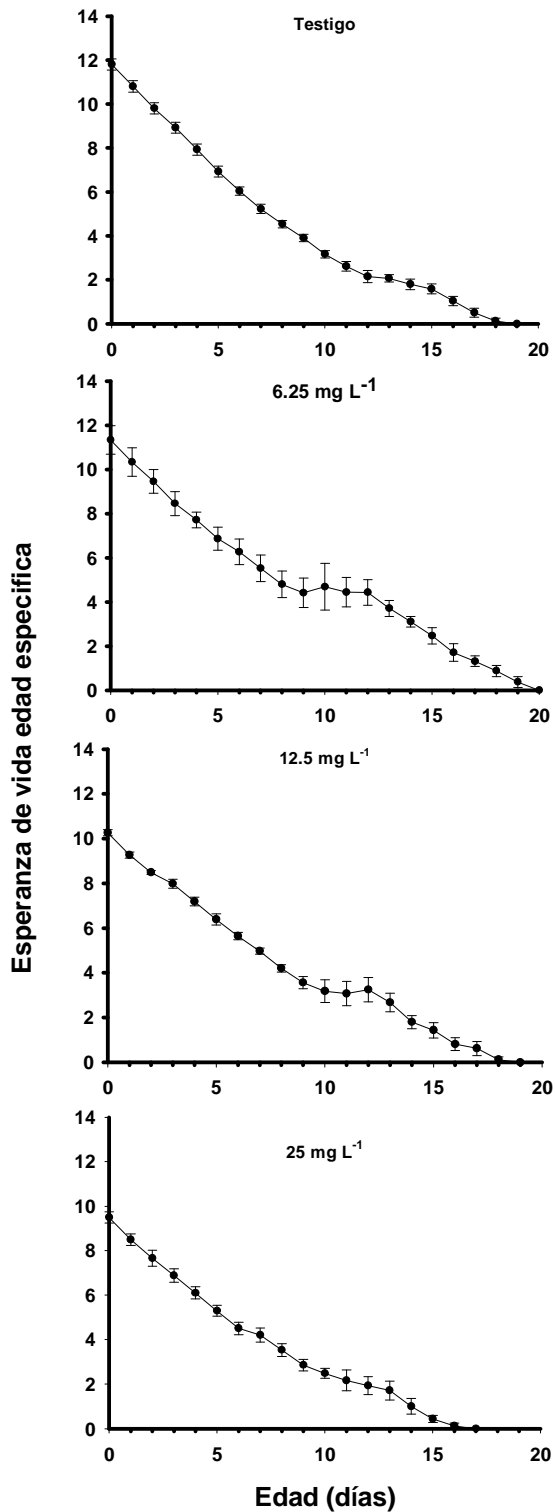


Fig. 10. Esperanza de vida edad específica (E_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

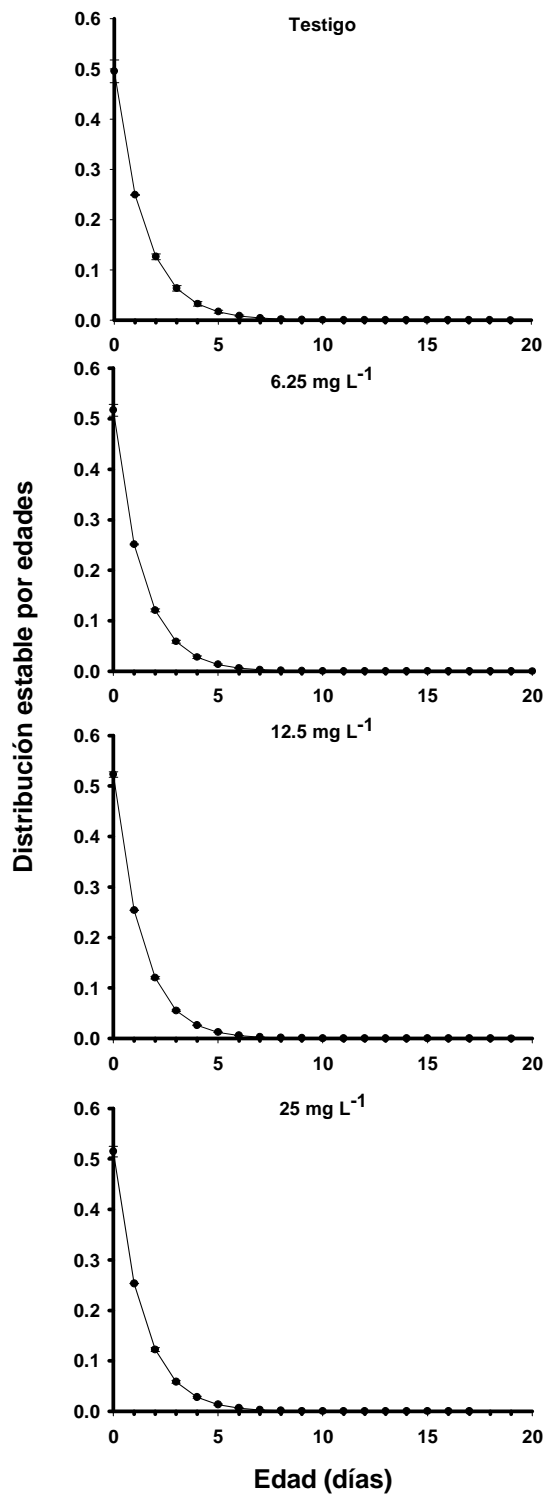


Fig. 11. Distribución estable por edades (C_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

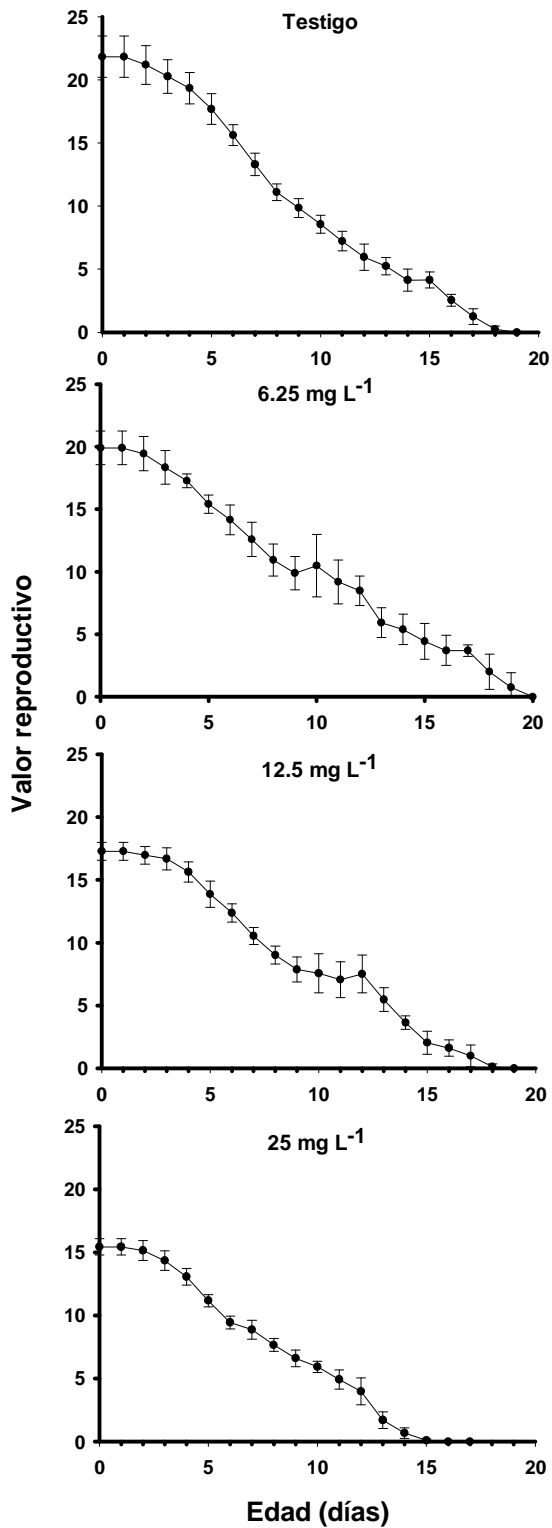


Fig. 12. Valor reproductivo (V_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

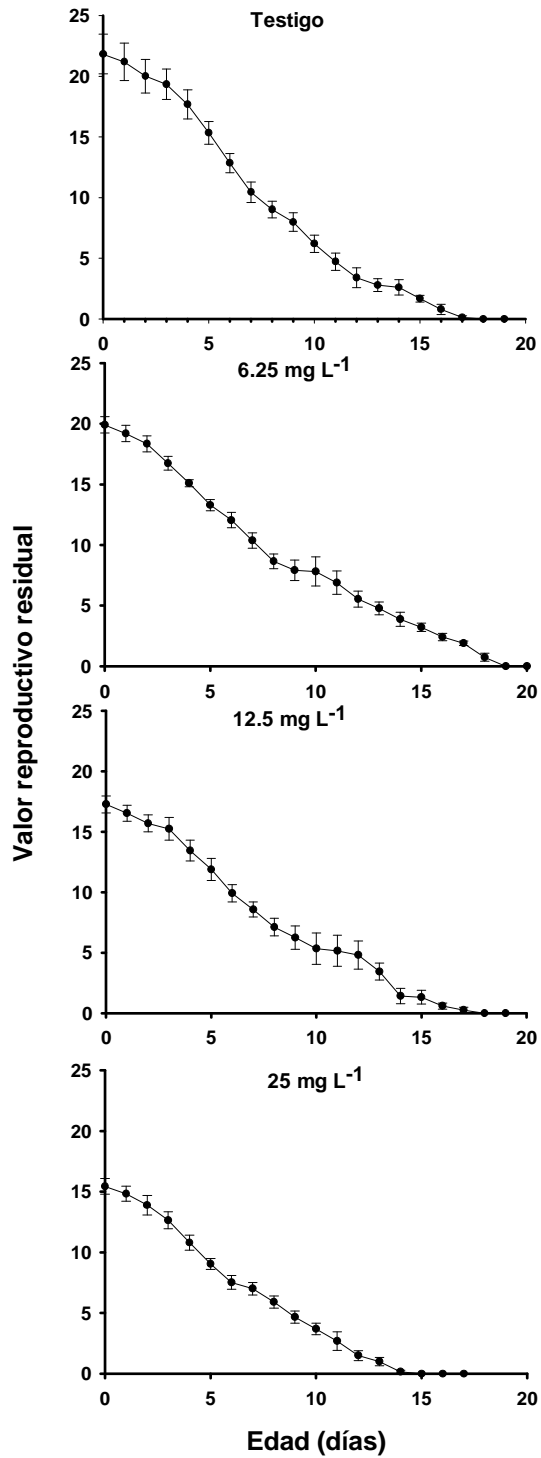


Fig. 13. Valor reproductivo residual (v_x) de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

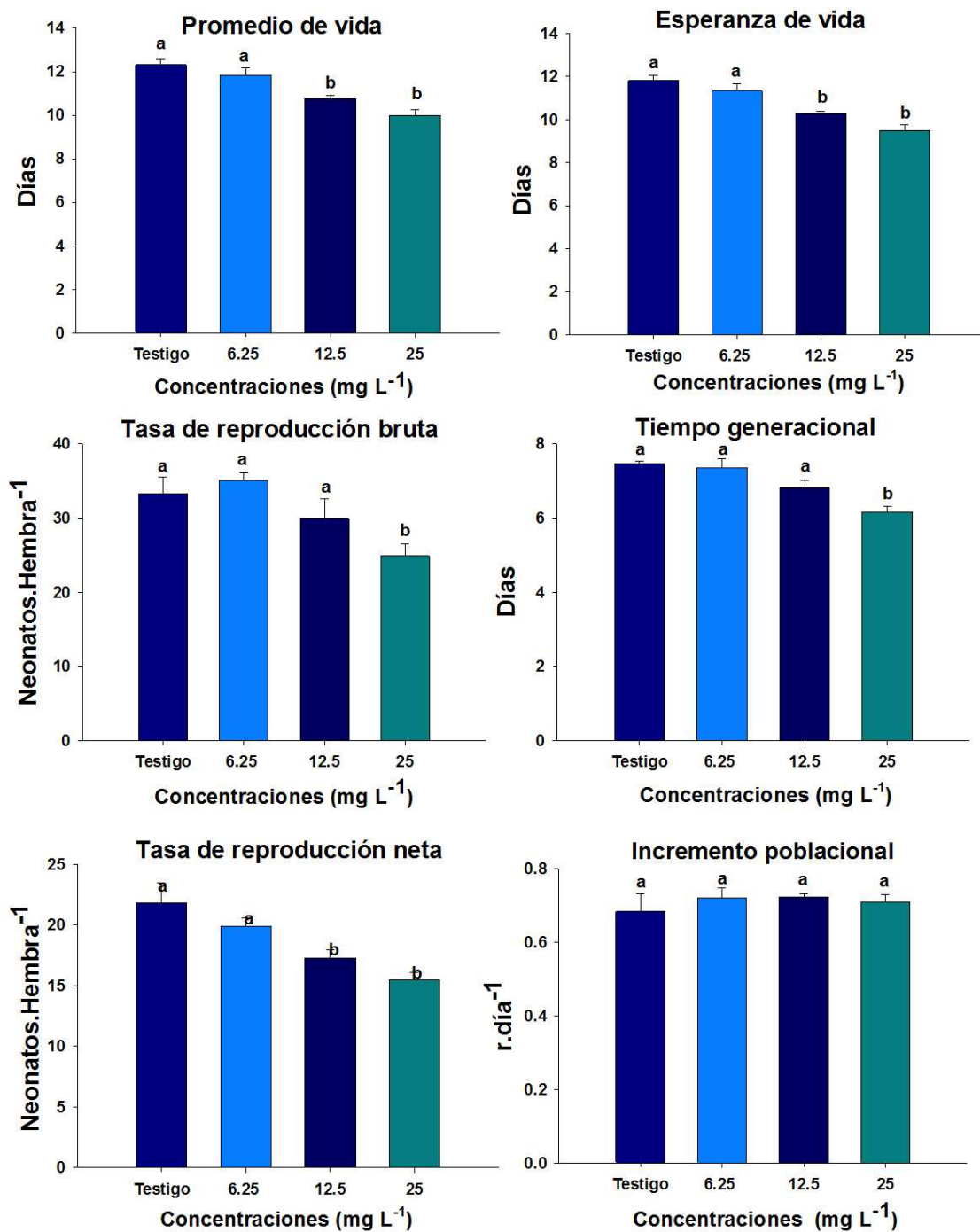


Fig. 14. Variables demográficas de tabla de vida de *B. calyciflorus* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones (cohorte) \pm error estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$), prueba Tukey.

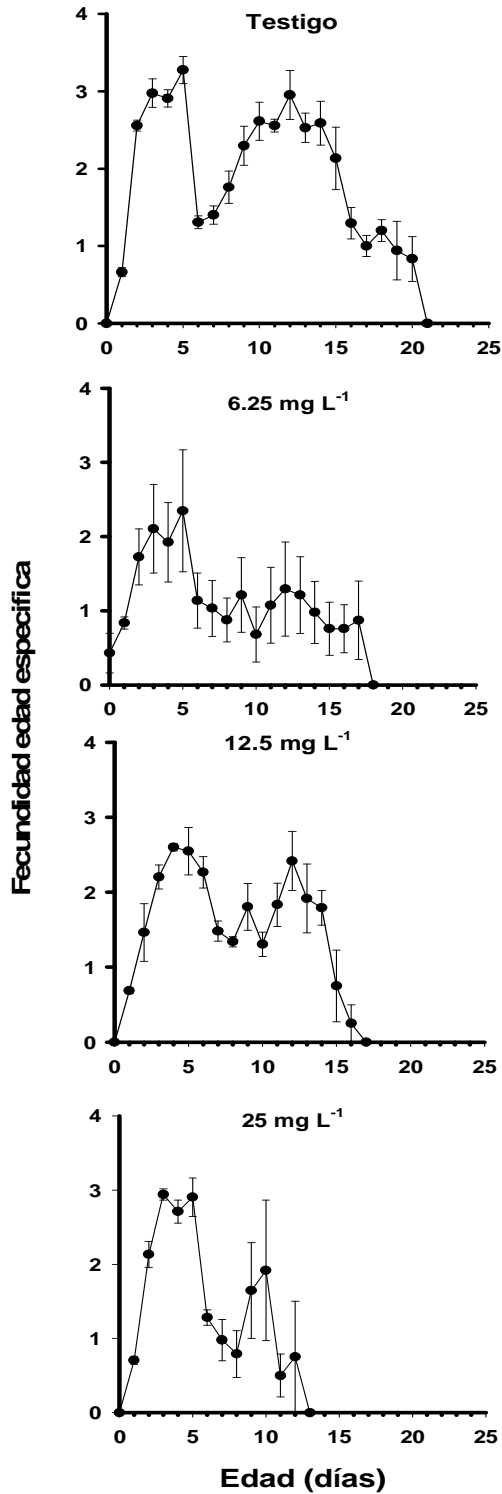


Fig. 15. Fecundidad edad específica (m_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

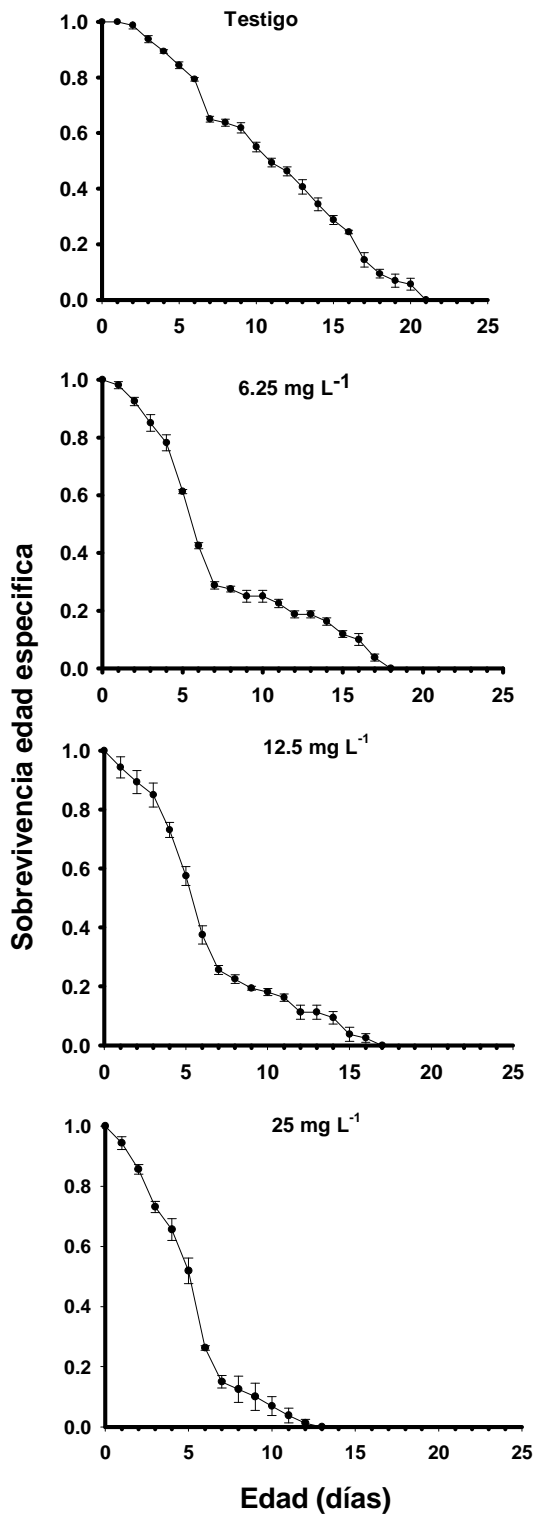


Fig. 16. Sobrevivencia edad específica (l_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél.mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

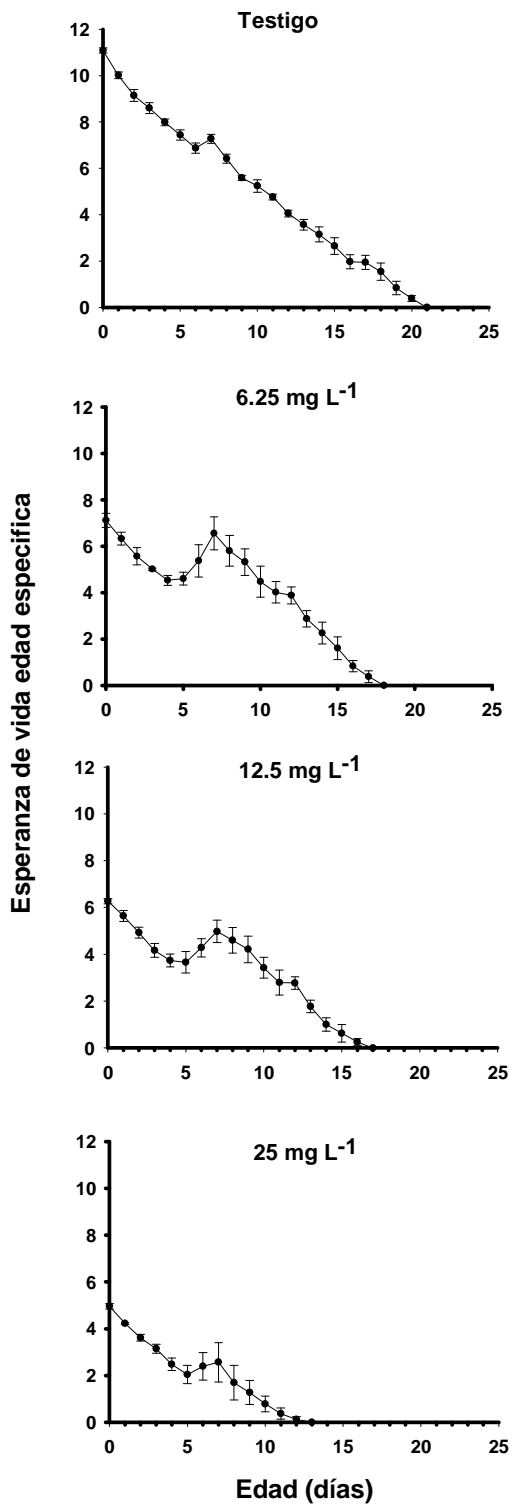


Fig. 17. Esperanza de vida edad específica (E_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

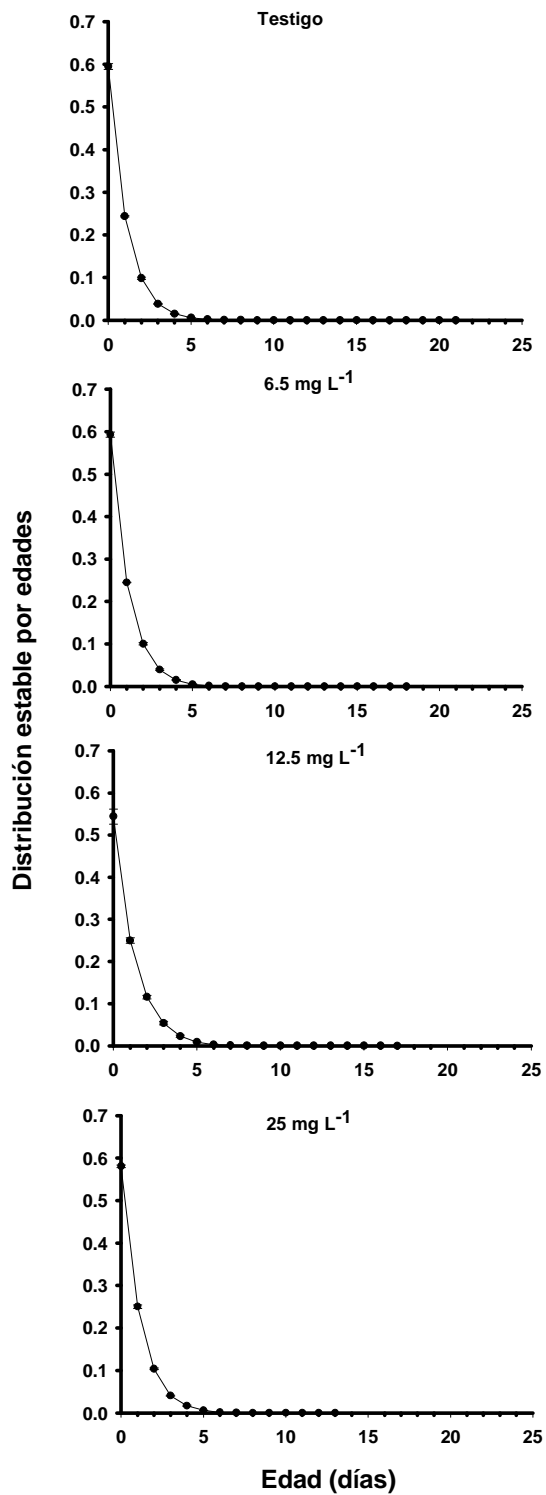


Fig. 18. Distribución estable por edades (C_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

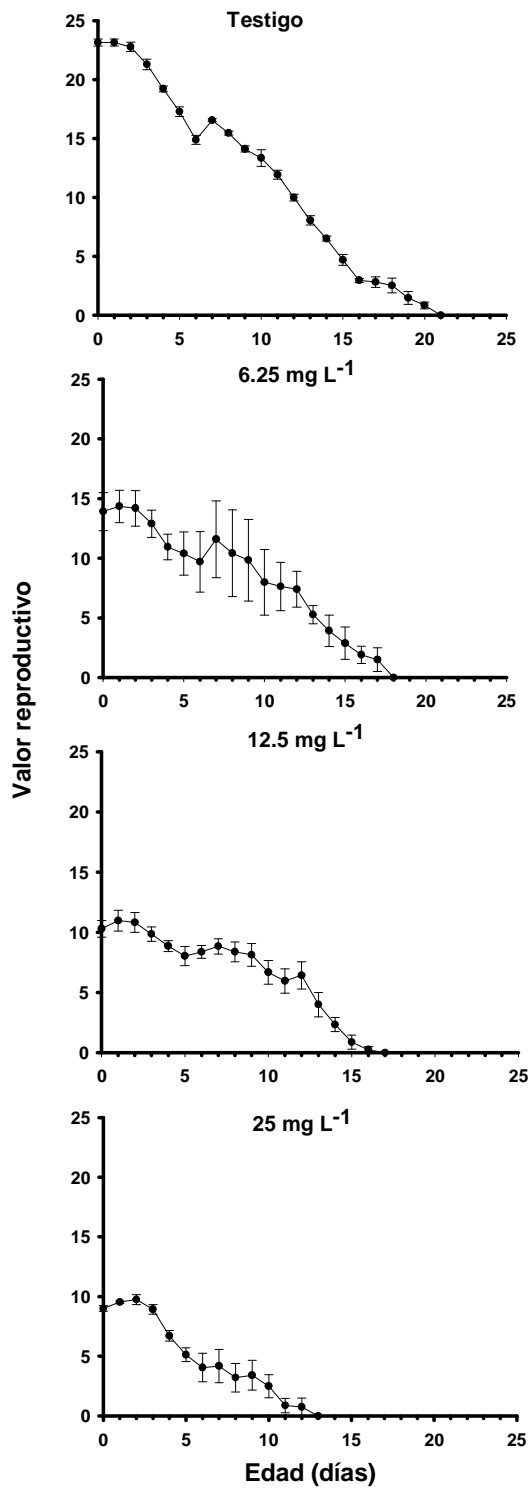


Fig. 19. Valor reproductivo (V_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

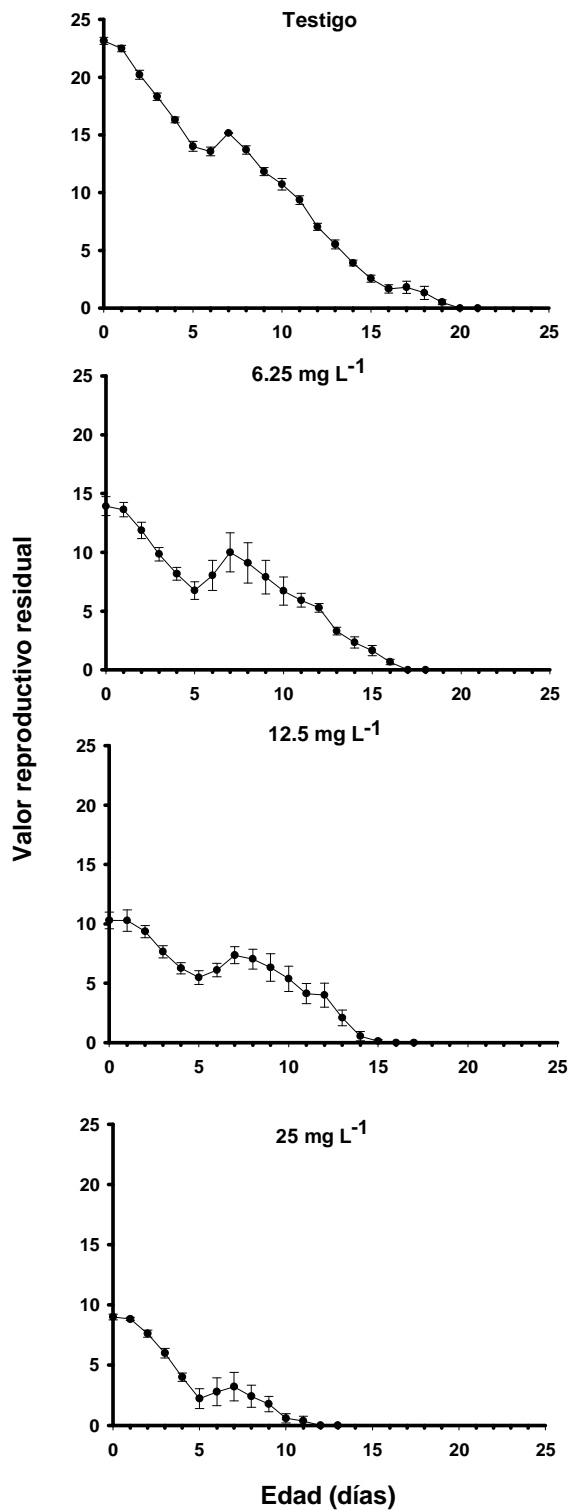


Fig. 20. Valor reproductivo residual (v_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

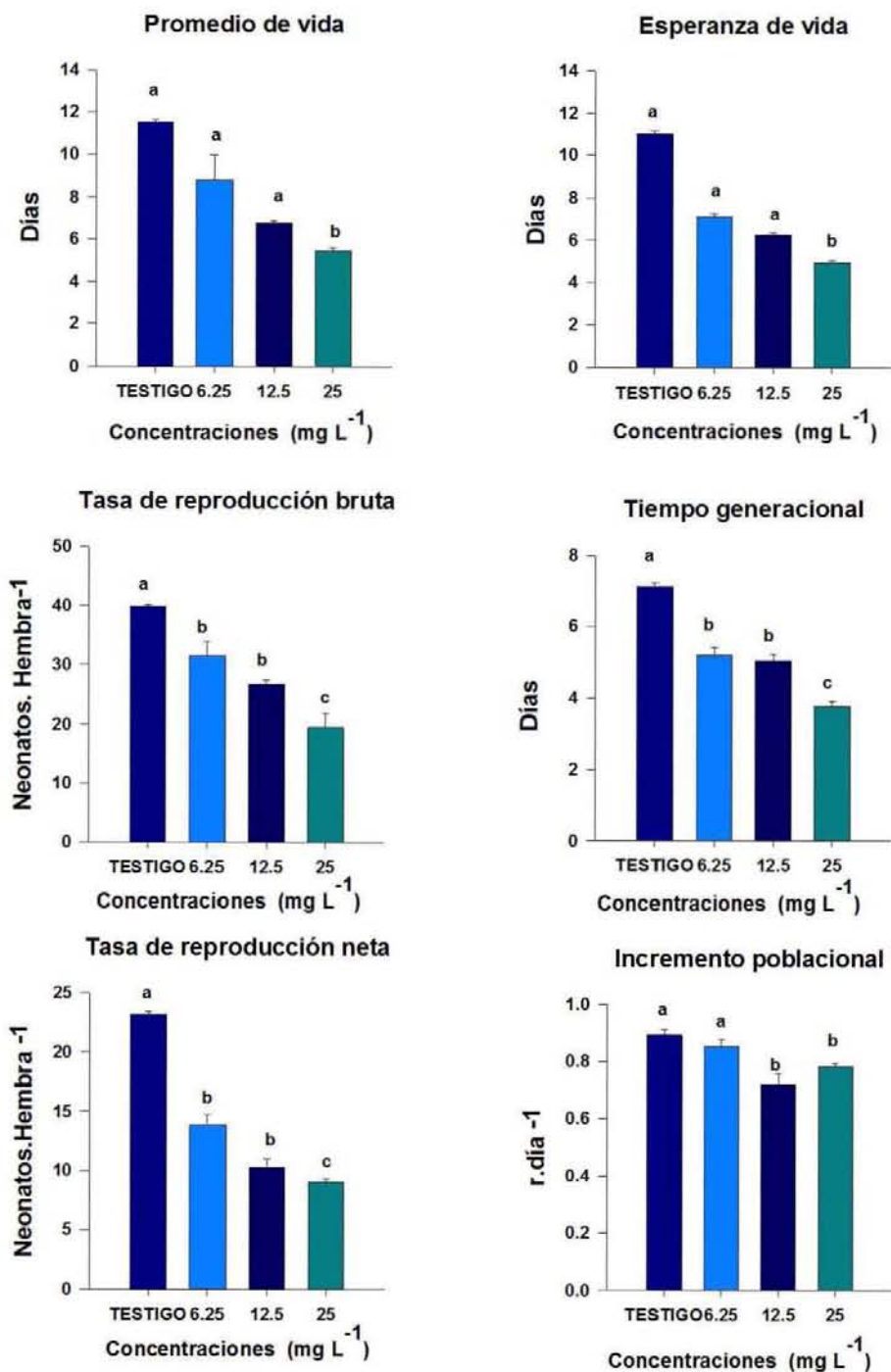


Fig. 21. Variables demográficas de tabla de vida de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de ibuprofeno a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones (cohorte) \pm error estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$), prueba Tukey.

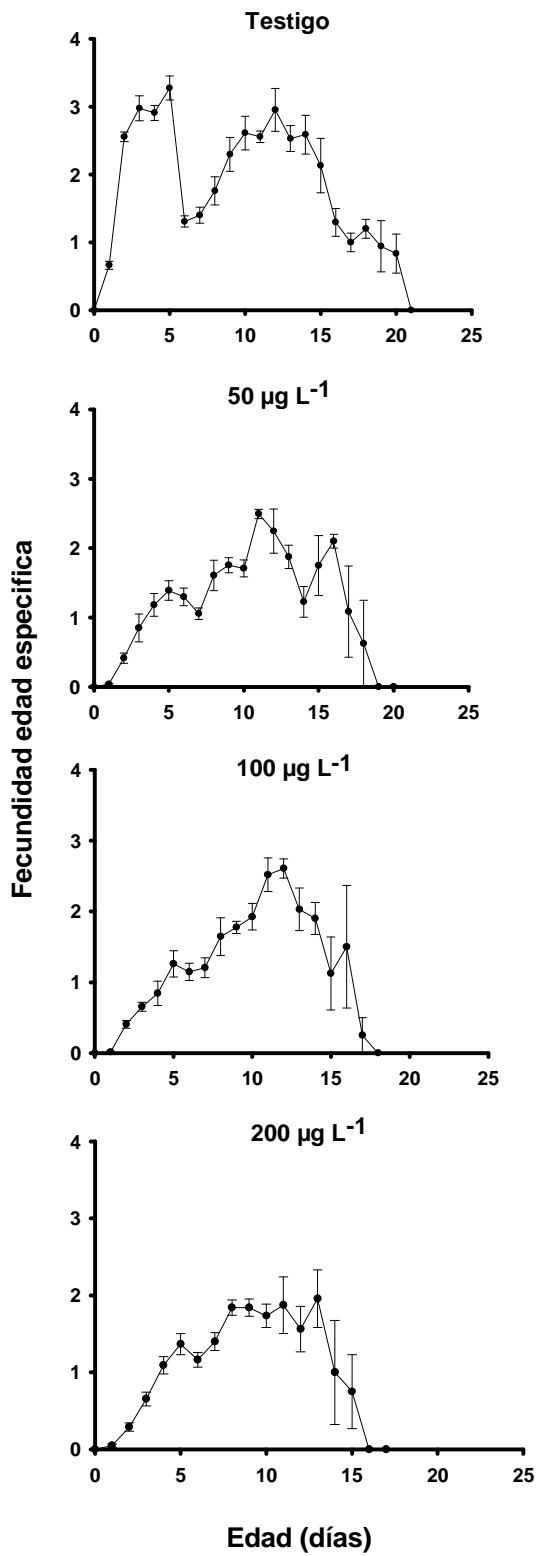


Fig. 22. Fecundidad edad específica (m_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

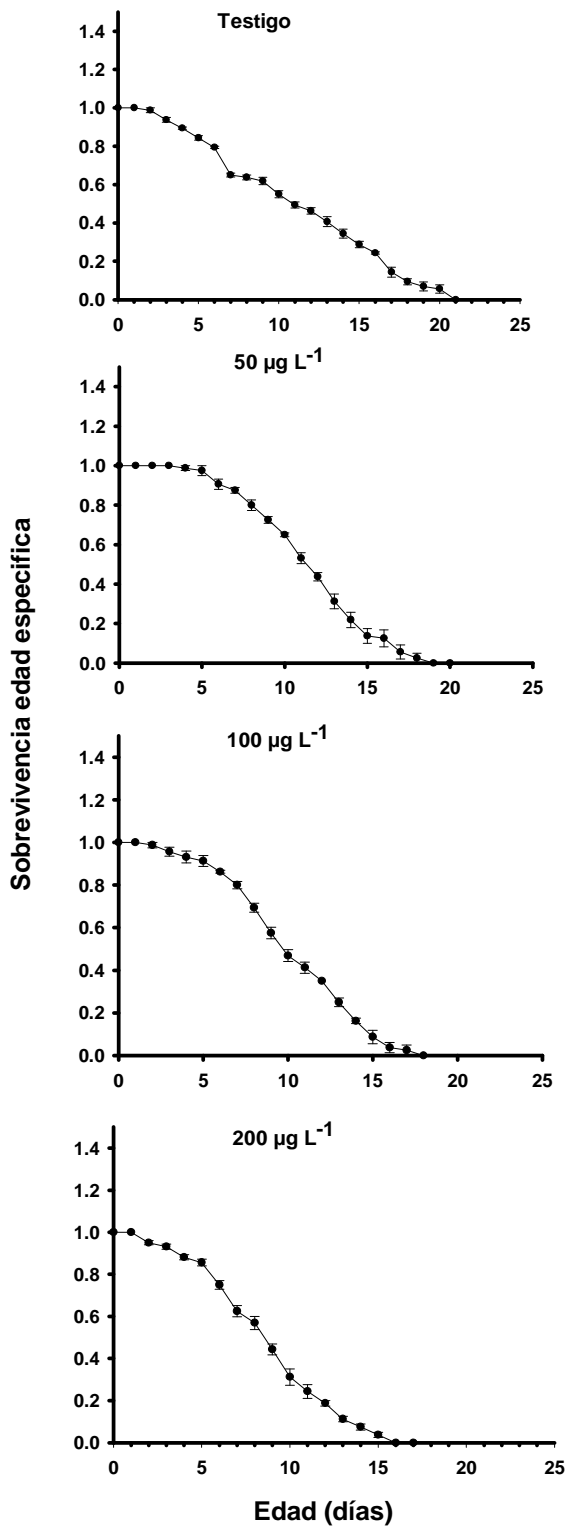


Fig. 23. Sobrevivencia edad específica (l_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

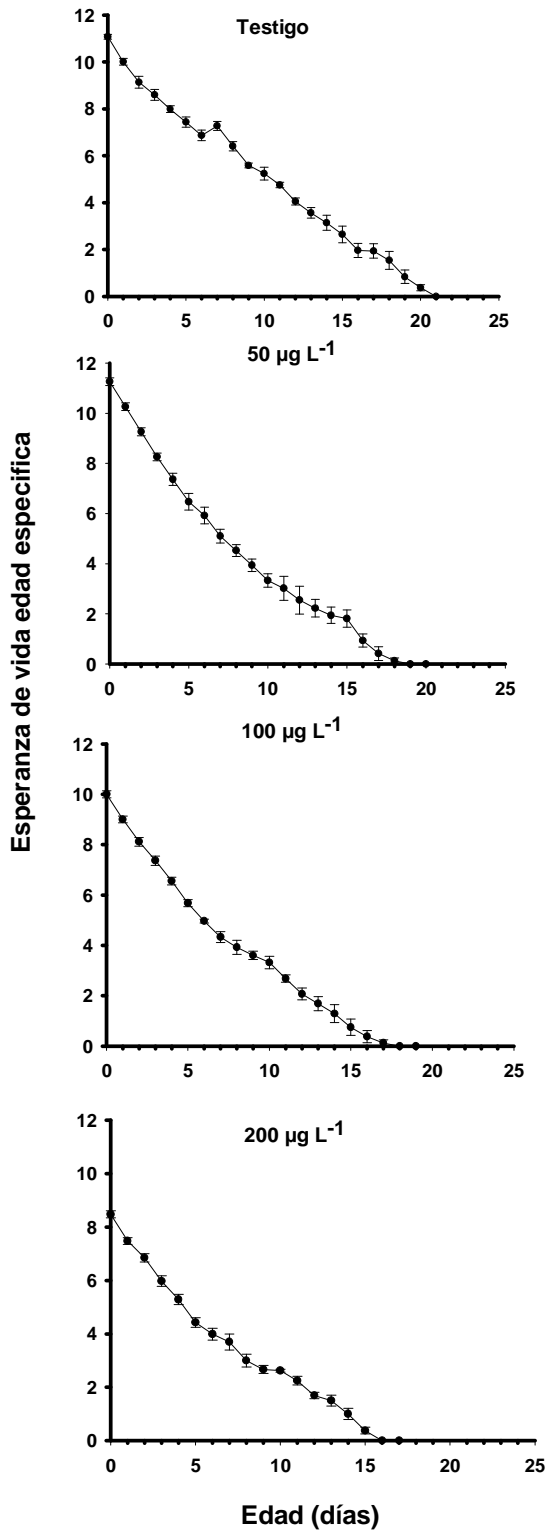


Fig. 24. Esperanza de vida edad específica (E_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL^{-1} *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar.

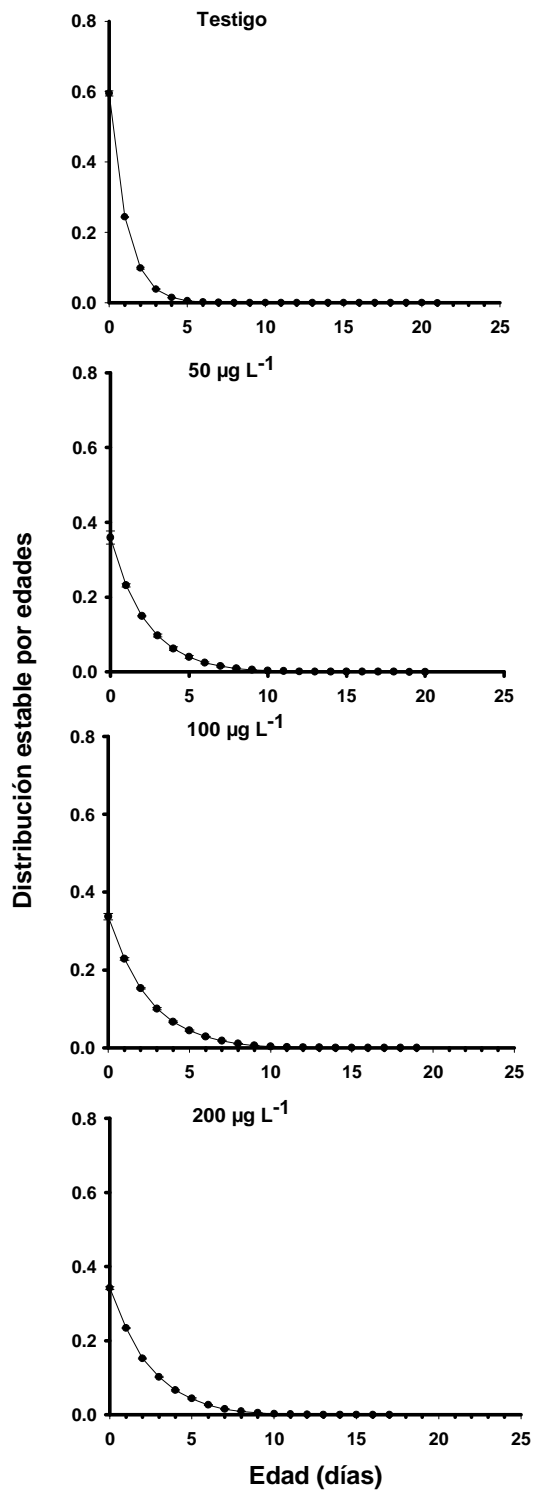


Fig. 25. Distribución estable por edades (C_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

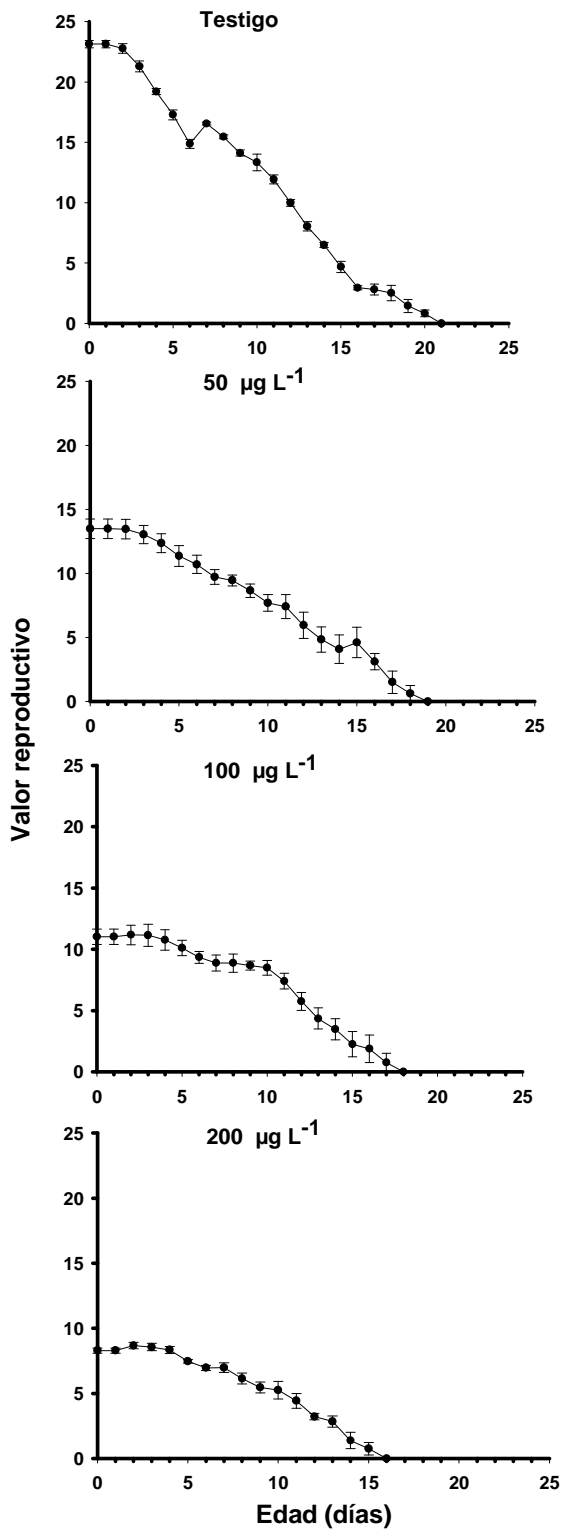


Fig. 26 Valor reproductivo (V_x) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

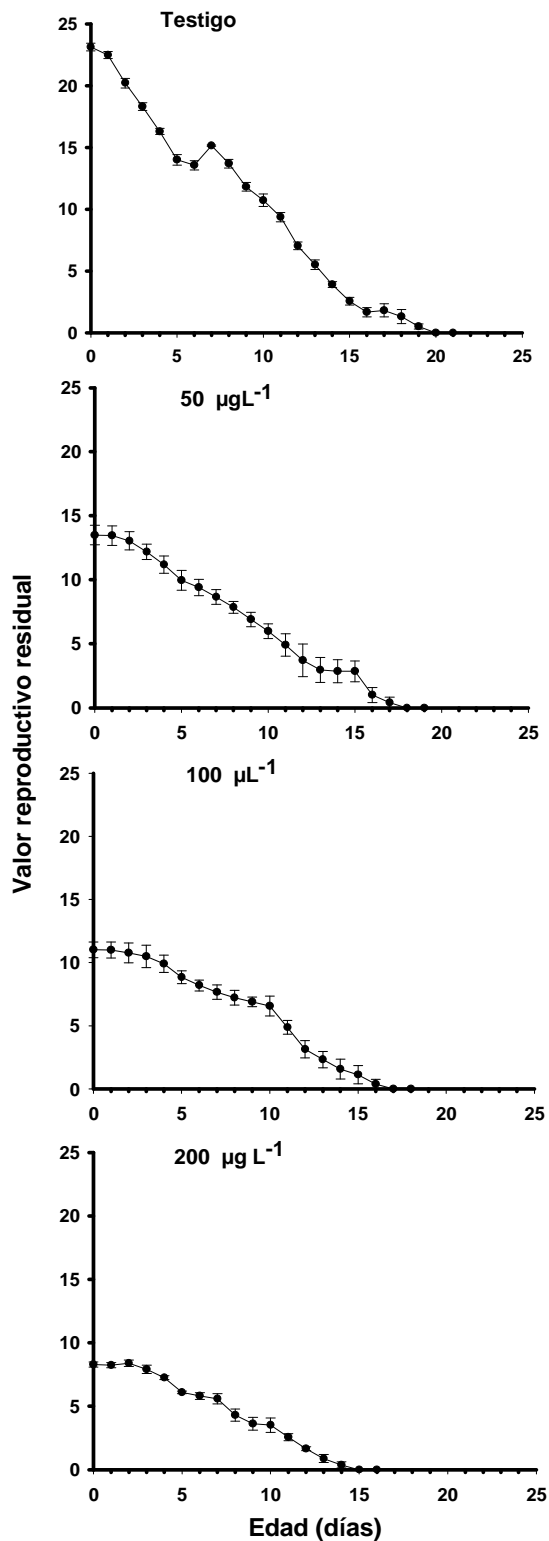


Fig. 27. Valor residual (vx) de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones \pm error estándar

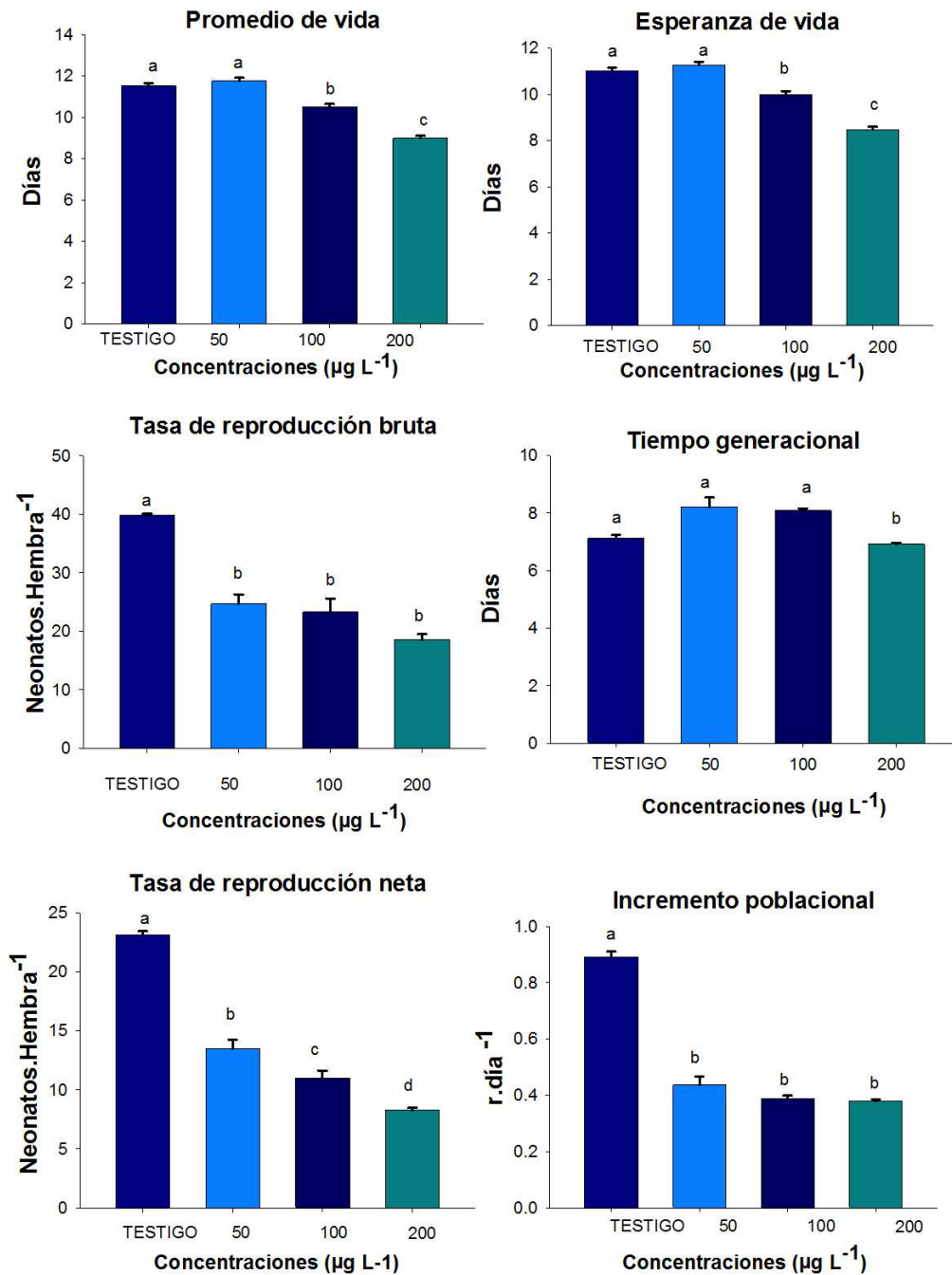


Fig. 28. Variables demográficas de tabla de vida de *B. havanaensis* con diferentes concentraciones de amoxicilina a 1×10^6 cél. mL⁻¹ *Chlorella vulgaris* como alimento. Media obtenida de cuatro repeticiones (cohorte) \pm error estándar. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$), prueba Tukey.

Tratamientos	Variables demográficas						
		Promedio de vida	Esperanza de vida	Tasa de reproducción bruta	Tasa de reproducción neta	Tiempo generacional	<i>r</i>
Testigo	0	12.3±0.3 ^a	11.8±0.3 ^a	33.2±2.2 ^a	21.8±1.6 ^a	7.4±0.1 ^a	0.68±0.0 ^a
Amoxicilina	50	10.6±0.3 ^b	10.1±0.3 ^b	30.3±1.0 ^a	17.4±0.6 ^b	6.6±0.1 ^b	0.63±0.0 ^a
	100	9.4±0.2 ^c	8.9±0.2 ^c	25.2±2.0 ^b	14.6±0.8 ^b	6.1±0.1 ^b	0.64±0.0 ^a
	200	8.6±2.5 ^c	8.1±2.5 ^c	23.4±0.9 ^b	13.5±0.9 ^b	5.6±0.3 ^c	0.67±0.01 ^a
Ibuprofeno	6.25	11.8±0.3 ^a	11.3±0.3 ^a	35.1±0.9 ^a	19.9±0.7 ^a	7.3±0.2 ^a	0.72±0.0 ^a
	12.5	10.7±0.1 ^b	10.2±0.1 ^b	29.9±2.6 ^a	17.2±0.7 ^b	6.7±0.2 ^a	0.72±0.0 ^a
	25	9.9±0.2 ^b	9.4±0.2 ^b	24.8±1.6 ^b	15.4±0.6 ^b	6.1±0.1 ^b	0.71±0.02 ^a

Tabla 1. Variables de historia de vida de *B. calyciflorus* expuesto a diferentes concentraciones de ibuprofeno (mg L⁻¹) y amoxicilina (µg L⁻¹) cultivados bajo 1X10⁶ cel. mL⁻¹ of *Chlorella vulgaris*. Promedio de vida (días); Esperanza de vida (días); Tasa de crecimiento bruto (descendencia hembra⁻¹); Tasa de reproducción neta (sobrevivencia descendencia hembra⁻¹); Tiempo generacional (días) y *r* = tasa intrínseca de crecimiento poblacional día. Las letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05), prueba de Tukey.

Tratamientos	Variables demográficas						
		Promedio de vida	Esperanza de vida	Tasa de reproducción bruta	Tasa de reproducción neta	Tiempo generacional	<i>r</i>
Testigo	0	11.5±0.1 ^a	11±0.1 ^a	39.8±0.3 ^a	23.1±0.3 ^a	7.1±0.1 ^a	0.89±0.0 ^a
Amoxicilina	50	11.8±0.2 ^a	11.3±0.2 ^a	24.7±1.7 ^b	13.5±0.8 ^b	8.2±0.3 ^a	0.43±0.0 ^b
	100	10.5±0.1 ^b	10.0±0.1 ^b	23.3±2.3 ^b	11.0±0.6 ^c	8.1±0.1 ^a	0.38±0.0 ^b
	200	9±0.1 ^c	8.5±0.1 ^c	18.6±0.9 ^b	8.3±0.1 ^d	6.9±0.05 ^b	0.38±0.0 ^b
Ibuprofeno	6.25	8.8±1.1 ^a	7.1±0.1 ^a	31.5±2.4 ^b	13.9±0.8 ^b	5.2±0.8 ^b	0.85±0.0 ^a
	12.5	6.8±0.1 ^a	6.3±0.1 ^a	26.7±0.7 ^b	10.3±0.7 ^c	5.0±0.2 ^b	0.71±0.0 ^b
	25	5.5±0.1 ^b	5.0±0.1 ^b	19.4±2.2 ^c	9.0±0.2 ^d	3.8±0.1 ^c	0.78±0.0 ^b

Tabla 2. Variables de historia de vida de *B. havanaensis* expuesto a diferentes concentraciones de ibuprofeno (mg L⁻¹) y amoxicilina (µg L⁻¹) cultivados bajo 1X10⁶ cel. mL⁻¹ of *Chlorella vulgaris*. Promedio de vida (días); Esperanza de vida (días); Tasa de crecimiento bruto (descendencia hembra⁻¹); Tasa de reproducción neta (sobrevivencia descendencia hembra⁻¹); Tiempo generacional (días) y *r* = tasa intrínseca de crecimiento poblacional día. Las letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05), prueba de Tukey.

DISCUSIÓN

Actualmente la ocurrencia de fármacos en el ambiente acuático se ha vuelto cada vez más común y por ende preocupa que no se conozcan los efectos ecotoxicológicos que puedan tener sobre especies acuáticas (Daughton y Ternes, 1999). Dependiendo de su modo acción, los fármacos pueden ser clasificados en diferentes categorías. Estos fármacos pueden ser utilizados para la medicina humana como la veterinaria, lo cual hace que constantemente sean producidos y consumidos por la población en grandes cantidades. América Latina ocupa el 3.3% a nivel global en la producción de estos productos (Secretaría de Economía, 2012), sin embargo, como su consumo y producción es alto, no se tiene un control riguroso sobre estas sustancias, lo cual conlleva a que sean desechados de manera inapropiada.

El uso desenfrenado de los fármacos y la falta de leyes rigurosas acerca de los desechos de estos, una vez que han caducado han provocado que se reporten concentraciones que van de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$ en diversos cuerpos de agua a nivel mundial (Daughton y Ternes, 1999). En México (Humedal de Xochimilco) se han reportado en concentraciones bajas, diversas sustancias xenobióticas entre ellas algunas provenientes de industrias farmacéuticas (Díaz-Torres *et al.*, 2013). Por lo tanto es importante realizar estudios como el presente para conocer los efectos que pueden tener estas sustancias xenobióticas sobre los organismos acuáticos.

Debido a que en México no se cuenta con una legislación rigurosa en cuanto al desecho de los fármacos, ni mucho menos en cuanto a límites permisibles de estos en ambientes acuáticos, ya se han reportado la presencia de diversos fármacos que van desde 0.6 a 2.6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ en sedimentos. Esto es debido a que los suelos fueron regados con aguas de desecho (Valdés-Alanís, 2009; Gibson *et al.*, 2010). Por tal razón fue necesario realizar bioensayos con especies zooplanctónicas, como *B. calyciflorus* y *B. havanaensis*. Ya que además de que son especies sensibles a cambios en el ambiente y tienen características que les permite ser utilizados como organismos de bioensayo, fueron aisladas del lago de Xochimilco. Además, se puede comparar la sensibilidad de estas especies a este tipo de sustancias xenobióticas.

Existen ya diversos estudios en donde se han realizado evaluaciones con algunas especies de rotíferos y de toxicidad con diferentes fármacos; entre ellos los analgésicos y antibióticos tales como el ibuprofeno y la amoxicilina (Snell y Janssen, 1995; Iannacone y Alvaríño, 2009; Araujo y McNair, 2007). Además, se cree que los rotíferos pueden utilizarse en evaluaciones de riesgo de fármacos y a sus metabolitos, debido a que tienen una mayor sensibilidad a bajas concentraciones de estas sustancias que otros organismos acuáticos que pudieran estar en contacto con xenobióticos, tales como cladóceros y algas (Snell y Joaquim-Justo, 2007).

Iannacone y Alvariño (2009), realizaron bioensayos con *Daphnia magna* obteniendo valores de CL50 para ibuprofeno de 175 mg L⁻¹ y para amoxicilina de 6950 mg L⁻¹. A pesar de ser concentraciones muy altas en donde se observa un efecto significativo sobre la mitad de la población, no se puede excluir el efecto crónico de estas sustancias en el ambiente, tal como lo han reportado diversos autores (Snell y Joaquim-Justo, 2007; Yong-Ju *et al.*, 2008). Por otra parte, los resultados de este ensayo son contrarios a lo obtenido por Iannacone y Alvariño (2009), en los cuales se obtuvo una gran mortalidad de la población en concentraciones mucho más altas (mg L⁻¹) a las que fueron utilizadas en estos ensayos con *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* utilizando amoxicilina en un orden de magnitud de µg L⁻¹ (ver tabla 1 y 2).

Es importante mencionar que la mayor parte de los estudios ecotoxicológicos se enfocan a realizar bioensayos agudos y en muy pocos casos se realizan simultáneamente con estudios crónicos (Snell y Jansen, 1995). Además, en su mayoría de los casos, la especie de cladóceros *Daphnia magna* ha sido utilizada para este tipo de ensayos (Sarma y Nandini 2006). Esta especie no se encuentra de manera natural en los cuerpos de agua de México a diferencia de ambas especies de rotíferos que fueron utilizados en estos bioensayos (*B. calyciflorus* y *B. havanaensis*), los cuales se encuentran ampliamente distribuidas en cuerpos de agua de México (Elías-Gutiérrez *et al.*, 2001). Por otra parte, al realizar estudios que involucran todo el ciclo de vida de los organismos zooplanctónicos, nos ayudan a conocer en que variables, las sustancias están verdaderamente afectando.

Muchas especies de la familia Brachionidae ya han sido utilizadas como organismos de bioensayo para identificar la sensibilidad de diversas sustancias xenobióticas, tales como los fármacos. Esto se debe a las características que presentan, tales como fácil manejo, sensibilidad a cambios en el ambiente y alta tasa de reproducción (Wallace *et al.*, 2002). El rotífero *Brachionus calyciflorus* ya ha sido utilizado ampliamente para diversas evaluaciones ecotoxicológicas ya que es una especie considerada por la ASTM. Debido a esto, ha sido expuesto a diversos xenobióticos en concentraciones que van de µg L⁻¹ a mg L⁻¹ incluyendo diversos analgésicos y antibióticos (Ferrari *et al.*, 2003; Andreozzi *et al.*, 2004). Esto concuerda con el presente ensayo, en el cual se observó diferente sensibilidad por parte de ambas especies de rotíferos con respecto a los fármacos, dependiendo de las concentraciones utilizadas. En cuanto a amoxicilina se obtuvieron diferencias significativas en la mayoría de las variables demográficas con respecto a *B. calyciflorus* a partir de la concentración más baja (50 µg L⁻¹) a diferencia de *B. havanaensis* en donde se mostró una diferencia significativa a partir de la penúltima concentración (100 µg L⁻¹) (Tabla 1 y 2).

En general, se sabe que los AINE's por su modo de acción afectan la ruta de la ciclooxigenasa (COX) (Flippin *et al.*, 2007). El ibuprofeno inhibe a su vez, la actividad de la enzima COX, que influye en la síntesis de eicosanoides. Se sabe que los eicosanoides actúan como mediadores para el sistema nervioso central y son considerados reguladores importantes de la reproducción no solo en mamíferos si no también en invertebrados (Hayashi *et al.*, 2008). Diversos trabajos como el de Hayashi *et al.*, (op.cit), muestran que cuando la pulga de agua (*Daphnia magna*) fue expuesta a ibuprofeno (0- 80 mg L⁻¹) se observó un decremento en la reproducción independientemente de las concentraciones a la que fue expuesta. Por otra parte, la reproducción fue inhibida completamente en los niveles más altos en donde se contenía el antiinflamatorio en el medio. Estos resultados

concuerdan con la tendencia observada con respecto a *B. havanaensis*, en donde se muestran un decremento y por ende efectos significativos en las variables de reproducción con respecto al testigo (Tasa de reproducción neta, tasa de reproducción bruta y tasa intrínseca de crecimiento poblacional).

A pesar de que se observaron diferencias significativas en cuanto a los tratamientos tanto en amoxicilina como en ibuprofeno, los datos muestran que amoxicilina fue mucho más tóxico para ambas especies de rotíferos (*B. havanaensis* y *B. calyciflorus*) que ibuprofeno. Esto concuerda con diversos bioensayos agudos en donde utilizaron organismos zooplanctónicos, en los cuales se observa el efecto negativo cuando fueron expuestos en concentraciones de $\mu\text{g L}^{-1}$ a amoxicilina y al ibuprofeno en un orden de mg L^{-1} (Sanderson *et al.*, 2004; Heckmann *et al.*, 2007; Hayashi *et al.*, 2008; Han *et al.*, 2010).

En el caso específico de los antibióticos, estudios demuestran que han sido clasificados como sustancias tóxicas para microorganismos acuáticos con valores de efectividad media (EC50) menores a 0.1 mg L^{-1} (Jones *et al.*, 2002). Por otra parte, también se ha demostrado que los xenobióticos, incluyendo a los fármacos, afectan adversamente al grupo de las algas con valores de EC50 que van en un rango de 0.1 y 1 mg L^{-1} (Sorensen, 2000). Esto concuerda con el presente estudio, ya que se observó un efecto significativo en la mayoría de las variables demográficas cuando fueron expuestas ambas especies de rotíferos a la más baja concentración de amoxicilina que fue de $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Algunas industrias farmacéuticas y hospitales debido a una ausencia de un reglamento riguroso, no presentan un método de tratamiento de sus desechos y existe la posibilidad de que se manden a diversos sistemas acuáticos sin un tratamiento previo (Togola y Budzinski, 2008). Por lo que es necesario monitorear su camino desde que son producidos hasta que son desechados inapropiadamente ya sea por hospitales, industrias farmacéuticas o de manera natural como metabolitos secundarios. Debido a que tanto protozoos, hongos y bacterias están en contacto con diversos tipo de antibióticos de manera natural, se ha comenzado a especular acerca de una resistencia de genes, sobre todo si estos son movilizados o difundidos a bacterias que sean potencialmente patógenas al humano (Baquero *et al.*, 2009). Por lo tanto cuando estos, llegaran a esten en contacto con algunos vertebrados o mamíferos y generan una enfermedad, no podría ser tratada de manera eficaz debido a la presencia de la bacteria resistente. Esto es generado particularmente debido a que estas sustancias son desechadas de manera inapropiada. Por otra parte, ya existen algunos reportes alarmantes de la resistencia bacteriana a los antibióticos en México. Por ejemplo, Dalkmann y sus colegas (2012) han informado sobre la resistencia microbiana del Valle del Mezquital sobre los antibióticos comúnmente utilizados en México.

El experimento se llevó a cabo de manera aislada para poder conocer el efecto directo que tienen estos fármacos, tanto la amoxicilina como el ibuprofeno sobre ambas especies de rotíferos. Debido a que se sabe que los efectos antagonistas como sinérgicos, son muy comunes en la naturaleza. La presencia así como la interacción de diversos fármacos en el ambiente puede producir un efecto ya sea aditivo o de disminución. Esto será dependiendo de la estructura química del fármaco, así como de los factores abióticos (temperatura, pH, entre otros) que estén involucrados (Backhaus, 2000). Dependiendo de la estructura química del compuesto, los organismos pueden transformar en metabolitos más tóxicos que

el componente principal o pueden degradar a sustancias inactivas o no peligrosas (Daughton y Ternes, 1999). Factores bióticos como parásitos, también pueden interactuar con los fármacos en la naturaleza y pueden causar enfermedades secundarias más fuertes (Winkler *et al.*, 2001; Christensen *et al.*, 2006). Esto normalmente ocurre en las plantas de tratamiento donde reciben sustancias como fármacos, desechos industriales, domésticos y de granjas (Daughton y Ternes, 1999).

Para este estudio, se realizó tabla de vida demográfica con la presencia de ambos fármacos en ambas especies de rotíferos para conocer los efectos de estos en la edad específica de las especies. Esto debido a que se sabe que sustancias xenobióticas (incluyendo los fármacos), pueden afectar diversos aspectos ecológicos de los rotíferos, tal como la tasa de aclaramiento, la tasa de filtración, sobrevivencia y también la reproducción. Para evaluar la reproducción se pueden realizar estudios como crecimiento poblacional y tabla de vida demográfica (Sarma *et al.*, 2014; García-García *et al.*, 2014).

A través de los experimentos de tabla de vida demográfica se pudieron derivar diversas variables, entre ellos, promedio de vida de nacimiento, tasa reproductiva bruta, neta, tiempo generacional, esperanza de vida y tasa de crecimiento poblacional, así como el presente trabajo. También se puede graficar curvas de sobrevivencia, esperanza de vida de edad específica, distribución estable por edad, valor reproductivo y valor reproductivo residual (Krebs, 1985; Pianka, 1988). Se tiene que considerar que no todas las variables son sensibles al mismo fármaco, por lo tanto es necesario derivar todas las variables para conocer cuáles son sensibles a cada tipo de fármaco. Sin embargo, diversos trabajos demuestran que las variables de la sobrevivencia son menos sensibles que aquellas de reproducción (Gama-Flores *et al.*, 2007; García-García *et al.*, 2014). Dentro de las variables de reproducción, tasa reproductiva neta y crecimiento poblacional son más sensibles que tiempo generacional o tasa reproductiva bruta (Rao y Sarma, 1986).

En este trabajo se encontró que los promedios de vida fueron decreciendo con el aumento de la concentración tanto de amoxicilina como de ibuprofeno, obteniendo valores que van de 12.3 ± 0.3 días en el testigo a 8.6 ± 0.2 y 9.9 ± 0.2 días en las concentraciones más altas respectivamente.

Por otra parte, se observa como el tiempo generacional fue afectado adversamente sobre todo cuando *B. calyciflorus* fue expuesto a amoxicilina. Sin embargo, a pesar de que si se presentó un efecto negativo cuando fue expuesto a ibuprofeno, únicamente hubo diferencia significativa en la más alta concentración.

Se observa claramente que en este ensayo, el rotífero mostró tener diferente sensibilidad a ambos fármacos, sin embargo fue mucho más sensible a los tratamientos en donde fue expuesto con amoxicilina que con ibuprofeno. Esto ya ha sido reportado por diversos autores, en donde mencionan el efecto adverso que pueden tener antibióticos derivados de la penicilina en diversos invertebrados (Brick, 1974; Zalewski y Wagner, 2011).

A pesar de que la amoxicilina, tuvo mayor efecto negativo sobre *B. calyciflorus*, también se observó un efecto adverso sobre la tabla de vida demográfica cuando fue expuesto a ibuprofeno, sin embargo únicamente fue significativo en las concentraciones más elevadas

del analgésico. Esto concuerda con lo ya mencionado por Daughton y Ternes (1999) quienes mencionan que dependiendo del modo de acción y en su mayoría, las concentraciones más altas pueden llegar a ser letales. Por otra parte, también, Pascoe *et al.*, (2003) mencionan que concentraciones encontradas en el ambiente (ng L^{-1} y $\mu\text{g L}^{-1}$) y cuando los organismos son expuestos a periodos largos, pueden afectar de manera negativa la reproducción. Lo cual concuerda con los datos obtenidos en este trabajo, ya que tanto la sobrevivencia como la fecundidad cuando *B. calyciflorus* fue expuesto a amoxicilina se vieron afectadas de manera adversa.

De los datos de tabla de vida demográfica se puede derivar una de las variables más representativas en cuanto a la sensibilidad, que es la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r). En este ensayo se obtuvieron valores de r sin la presencia de ambos fármacos de 0.68 por día, lo cual concuerda con Lucía-Pavón *et al.* (2001) en donde reportan valores para *B. calyciflorus* alimentado con (*Chlorella vulgaris*) que van desde 0.50 a 0.79 por día, dependiendo de la concentración del alimento a los que fueron expuestos los rotíferos.

Diversos trabajos muestran como la tasa intrínseca de crecimiento poblacional se ve afectada adversamente cuando la población se encuentra bajo algún estrés, dando en ocasiones valores negativos (Gamma Flores *et al.*, 1999; García *et al.*, 2004; Ramírez-Pérez *et al.*, 2004). A pesar de que fue disminuido el valor de r en los tratamientos con amoxicilina e ibuprofeno, no hubo diferencias significativas en esta variable, aunque es necesario considerar las demás variables de tabla de vida demográfica como ya se ha comentado anteriormente. Por otra parte, no se puede descartar la posibilidad de los efectos adversos que puedan tener estos fármacos sobre los organismos acuáticos como lo sugiere Pascoe y col. (2003) ya que constantemente se encuentran presentes en cuerpos de agua y pueden estar expuestos de manera prolongada y a concentraciones bajas.

B. havanaensis ha sido considerado para diversos ensayos debido a que es una de las especies de la familia Brachionidae más comúnmente encontrada en cuerpos de agua de México (Garza-Mouriño *et al.*, 2005; Nandini *et al.*, 2005). En general se pudo observar que el rotífero fue mucho más sensible al antibiótico (amoxicilina) que al ibuprofeno como se observa en las curvas de sobrevivencia, lo cual concuerda con trabajos en donde muestran el efecto negativo de la amoxicilina sobre diversos grupos de algas e invertebrados a concentraciones bajas (Sanderson *et al.*, 2004; Pan *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2012).

Normalmente los rotíferos bajo condiciones ideales, tienen curvas de sobrevivencia de tipo I en donde existe poca mortalidad durante las dos primeras semanas de su vida, después una alta mortalidad debido a senescencia. Esta tendencia se puede observar en este trabajo en donde ambas especies de rotíferos mostraron una sobrevivencia alta durante la primera semana del experimento. Se sabe que sustancias tóxicas, fármacos y otros factores estresantes, causan mortalidad desde un inicio, alterando el tipo de curva de sobrevivencia (Snell y Joaquim-Justo, 2007). En este trabajo se puede observar que las concentraciones más elevadas de amoxicilina e ibuprofeno, causan una gran mortalidad desde un inicio.

Los parámetros reproductivos (tasa reproductiva bruta y neta) de los rotíferos sujetos a diferentes concentraciones de fármacos fueron sensibles, lo que fue evidente a través del análisis estadístico. Los rotíferos de manera natural en temporada reproductiva se pueden dividir en tres fases: Pre reproductivo, reproductivo y post reproductivo. En la fase de pre reproducción se forman a partir del nacimiento aproximadamente a los dos días. La fase reproductiva es la más larga en la vida de los rotíferos, debido a que son iteróparos. Esta puede variar entre 2 y 3era semana dependiendo del alimento, temperatura y la especie. La fase post reproductivo es generalmente menos de una semana después de la fase reproductiva. En ambas especies de rotíferos que fueron ocupadas en este trabajo, se observa que un gran número de especies de rotíferos de Brachionidae no se presenta una fase post reproductivo y mueren reproduciéndose.

En este trabajo, se muestra que ambas especies de rotíferos produjeron alrededor de 3 descendientes por hembra por día en el testigo. De esta manera se encuentran en el rango reportado por la literatura, en donde mencionan que los rotíferos a pesar de ser iteroparos producen cierto número de descendientes diariamente después de llegar a la edad de madurez. De acuerdo a la literatura, los rotíferos de la familia Brachionidae puede generar hasta 4 descendientes por hembra por día, dependiendo de la cantidad del alimento disponible así como la temperatura (Wallace *et al.*, 2006).

Se puede observar en la tabla de vida demográfica de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* en el caso de testigo como en los demás tratamientos, que la tasa reproductiva bruta fue entre 20 y 60% más alto que la tasa reproductiva neta. Dentro de las variables de tasa de reproductiva bruta y neta, el anterior es generalmente numéricamente más alto que el último. Esto se debe a que la tasa reproductiva neta es un producto de sobrevivencia por reproducción. Por lo tanto, cuando la cohorte muestra alta mortalidad, la tasa de reproductiva neta es menor. Como se menciona anteriormente la tasa reproductiva neta es un producto de sobrevivencia y la reproducción, ambos fármacos, causaron mortalidad de las cohortes de ambas especies. Esto fue resultado de alta diferencia entre la tasa reproductiva bruta y neta. Por ejemplo, en el testigo la diferencia entre tasa reproductiva neta y bruta fue menos de 40% a diferencia de en la última concentración en donde se observó más del 50%. Varias especies de rotíferos incluyendo *P. patulus*, reportaron que la tasa reproductiva bruta y neta variaron entre 25 y 10 descendientes hembra. Los datos reportados por este trabajo entran dentro del rango que ya ha sido reportado por la literatura.

De manera general dentro de los metazoos, los rotíferos presentan una corta duración del tiempo generacional. Por ejemplo, los rotíferos carnívoros del género *Asplanchna* tienen tiempo generacional muy corto de tan solo 2 días (Dumont y Sarma, 1995). Generalmente en el género de *Brachionus*, con respecto a este dato, el tiempo generacional puede variar entre 10 y 15 días dependiendo del alimento y la temperatura. En este trabajo se puede observar una disminución en esta variable en ambas especies de rotíferos, de más del 60% en los tratamientos de más alta concentración con respecto al testigo. Esto concuerda con la literatura en donde se menciona que factores que causan estrés, incluyendo la presencia de fármacos, pueden llegar a disminuir esta variable hasta en un 50% (Sarma *et al.*, 2006).

En el presente trabajo de acuerdo al análisis comparativo, la tasa de incremento poblacional no fue afectada, sin embargo en otras variables se obtuvieron efectos significativos cuando estuvieron presentes los fármacos. Por lo que es importante mencionar que la tasa de crecimiento poblacional es un factor importante que determina la dinámica de población en la naturaleza sumando el efecto de factores ambientales (abióticos y bióticos) sobre la edad de primera reproducción, la frecuencia de reproducción así como la sobrevivencia (Krebs, 1985). En ecotoxicología es un factor muy sensible debido a que las sustancias tóxicas generalmente afectan la reproducción más que sobrevivencia (Forbes y Calow, 1999). Fármacos en general no necesariamente afectan con la misma magnitud que sustancias tóxicas como metales o pesticidas. Debido a esto, el valor de r derivada a través de tabla de vida demográfica bajo estrés de fármaco no necesariamente es considerado sensible.

Como se mencionó anteriormente, estas sustancias no muestran un efecto significativo sobre el valor de r , también las diferencias con respecto a los valores tanto reproductivos como residuales no fueron tan marcadas. Se sabe que los efectos de sustancias como fármacos pueden ser reflejados en otras variables reproductivas tales como el valor reproductivo y el valor reproductivo residual. Estas variables, se pueden cuantificar a través de tabla de vida demográfica en diferentes niveles de edad específica (Krebs, 1985). En general estas variables son sensibles cuando el efecto del fármaco es más fuerte sobre la reproducción, por lo que no se observó tan marcado, en el experimento.

CONCLUSIONES

Tanto la amoxicilina como el ibuprofeno son fármacos ampliamente utilizados por la población en México, sin embargo el estudio mostró que tienen un efecto negativo sobre la dinámica poblacional de *Brachionus calyciflorus* y *Brachionus havanaensis*.

El presente estudio refleja que existieron efectos negativos en la mayoría de las variables demográficas de tabla de vida de ambas especies de rotíferos cuando fueron expuestos a amoxicilina como a ibuprofeno durante su ciclo de vida.

Los efectos que se observaron sobre la tabla de vida demográfica de *B. calyciflorus* y *B. havanaensis* a las diferentes concentraciones subletales de amoxicilina e ibuprofeno, fueron negativos sobre todo en la sobrevivencia y reproducción.

La sobrevivencia de *B. calyciflorus* se vio drásticamente disminuida sobre todo cuando fue expuesto a la concentración más alta tanto de amoxicilina como en ibuprofeno. Sin embargo la amoxicilina afectó más la sobrevivencia de del rotífero que cuando fue expuesto a los tratamientos que contenían ibuprofeno en el medio.

Cuando *B. havanaensis* fue expuesto a ibuprofeno y amoxicilina, la sobrevivencia del rotífero disminuyó con el incremento de las concentraciones. Sin embargo la amoxicilina resultó tener un efecto mucho más adverso sobre la sobrevivencia del rotífero en comparación con el ibuprofeno.

Se observó una disminución marcada de la fecundidad de *B. calyciflorus* sobre todo cuando fue expuesto a las concentraciones de ibuprofeno a diferencia de cuando fue expuesto a la amoxicilina.

La fecundidad de *B. havanaensis* cuando fue expuesto tanto a amoxicilina como al ibuprofeno se vio disminuido drásticamente desde las concentraciones más bajas.

B. havanaensis mostró una disminución drástica en su reproducción sobre todo cuando fue expuesto a amoxicilina.

Cuando *B. calyciflorus* fue expuesto a los tratamientos que contenían tanto ibuprofeno como amoxicilina, la tasa intrínseca de incremento poblacional no se vio afectado de manera significativa.

Por lo que independientemente de las concentraciones de ambos tratamientos de los fármacos tanto el analgésico como el antibiótico, se observó una tendencia de disminución de la población, sobre todo al aumentar las concentraciones. En general, los datos mostraron que el antibiótico (amoxicilina) fue mucho más tóxico para ambas especies de rotíferos en comparación al ibuprofeno.

Debido a que se observaron efectos negativos en la dinámica poblacional en ambas especies de rotíferos, durante la exposición tanto a la amoxicilina como al ibuprofeno, estos fármacos pueden ser considerados peligrosos para el ambiente y dañinos para organismos acuáticos. Ya que estas sustancias entran de manera natural a los cuerpos de agua, es necesario observar y monitorear los efectos que puedan llegar a tener sobre las especies acuáticas que puedan estar en contacto de manera directa e indirecta.

Ya que no existe un control riguroso en México sobre la presencia, el desecho y los límites permisibles en general de los productos farmacéuticos en el ambiente, es sumamente importante que las autoridades correspondientes lleven a cabo el monitoreo de los impactos y efectos que pueden tener de este tipo de sustancias xenobióticas en el ambiente acuático.

REFERENCIAS

- Altenburger, R., Walter, H., Grote, M. 2004. What contributes to the combined effect of a complex mixture? *Environmental Scientific Technology*. 38:6353-6362.
- Anónimo. 2010. ANAFARMEX. Formulario. México, D.F.
- Araujo, A., McNair, J. N. 2007. Individual and population level effects of antibiotics on the rotifers, *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*. 593:185–199.
- Backhaus T., Scholze M., Grimme, L.H. 2000. The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Aquatic Toxicology*. 49:49–61.
- Baquero, F., Álvarez-Ortega, C., Martínez, J.L. 2009. Ecology and evolution of antibiotic resistance. *Environmental Microbiology Reports* 1: 469–476.
- Bejarano, P. Ibuprofeno y analgesia. 2006. *EMB (Ed. Español)*.5:39-42.
- Benavides-Plascencia, L., Aldama-Ojeda, A. L., Vázquez, J.H. 2005. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública México*. 3:219-226.
- Bergoglio, R., M.1977. Antibióticos. Editorial Médica Panamericana. 17 p.
- Borowitzka, M.,A. y Borowitzka L.,J. 1988. Micro-algal biotechnology. Cambridge University, London. 480 p.
- Brick, W., R. 1974. Effects of water quality, antibiotics, phytoplankton and food on survival and development of larvae of *Scylla serrata* (Crustacea: *Portunidae*). *Aquaculture*. 3 231-244.
- Camps G., P., Vázquez Cruz, S., Escolano Mirón, C., 2005. Fundamentos de síntesis de fármacos. Edicions Universitat Barcelona. 129-130 p.
- Christensen, A.M., Ingerslev, F., Braun, A., 2006. Ecotoxicity of mixtures of antibiotics used in aquaculture. *Environmental Toxicology Chemistry*. 25, 2208–2215
- Cleuvers, M. 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 59: 309–315.
- Conde-Porcuna, J.M., Ramos-Rodríguez, E., Morales-Baquero, R. 2004. El zooplancton como integrante de la estructura trófica de los ecosistemas lénticos. *Ecosistemas*. 13:23-29.
- Crane, M., Watts, C.H. y Boucard, T. 2006. Chronic aquatic environmental risks from exposure to human pharmaceuticals *Science of the Total Environment*. 367, 23–41.
- Dalkmann P, Broszat M, Siebe C, Willaschek E, Sakinc T, Huebner, J., Amelung, W., Grohmann, E. y Siemens, J. 2012. Accumulation of Pharmaceuticals, *Enterococcus*, and Resistance Genes in Soils Irrigated with Wastewater for Zero to 100 Years in Central Mexico. *PLoS ONE* 7(9): e45397. doi:10.1371/journal.pone.0045397
- Daughton, C.G., Ternes, T.A., 1999. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? *Environmental Health Perspective*. 107, 907–942.
- Díaz-Torres, E., Gibson, R., González-Farías F., Zarco-Arista, A.E. y Mazari-Hiriart, M. 2013. Endocrine disruptors in the Xochimilco Wetland, Mexico City. *Water air soil pollution*. 224:1-11.

- Dresler, A., Wirtz, V.J., Corbett KK, Echániz G. 2008. Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud Publica Mex*; 50 supl 4:S480-S487.
- Dumont, H.J. y Sarma, S.S.S. 1995. Demography and population growth of *Asplanchna girodi* (Rotifera) as a function of prey (*Anuraeopsis fissa*) density. *Hydrobiologia* 306: 97-107.
- Elías-Gutiérrez M., Suárez-Morales E., Sarma, S.S.S. 2001. Diversity of fresh water zooplankton in the neotropics: the case of Mexico. *Verth Int Vere in Limnology*. (27): 4027- 4031.
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*, 3rd edn. Cambridge University Press, London.
- Flippin, J.L., Huggett, D., Foran, C.M., 2007. Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology*. 81:73–78.
- Flórez, J., Armijo, A. J., y Mediavilla, A. 1997. *Farmacología Humana*. 3º edición Masson S.A.
- Forbes VE y P. Calow. 1999. Is the per capita rate of increase a good measure of population-level effects in ecotoxicology? *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 1544–1556.
- Gama-Flores JL, Sarma SSS & Araíza MAF 1999 Combined effects of *Chlorella* density and methyl parathion concentration on the population growth of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *Bull. Environ Contamination Toxicology*. 62(6): 769-755.
- Gama-Flores, J.L., Castellanos-Paez M.E., Sarma, S.S.S. y Nandini S. 2007. Life table demography of *Ceriodaphnia dubia* (Cladocera) exposed to copper at different levels and periods. *Journal of Environmental Biology* 28(3): 691-696.
- Garza-Mouriño, G., M. Silva-Briano, S. Nandini, S.S.S. Sarma and M.E. Castellanos-Páez. 2005. Morphological and morphometrical variations of selected rotifer species in response to predation: a seasonal study of selected brachionid species from Lake Xochimilco (Mexico). *Hydrobiologia*, 546, 169-179.
- Gibson, R., Durán-Álvarez, J.C., León Estrada, K., Chávez, A. y Jiménez Cisneros, B. 2010. Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*. 81:1437-1445.
- Gómez-Oliván, L., Carmona-Zepeda, F., Galar-Martínez, M., Téllez-López, A., Amaya-Chávez, A. 2009. Estudio de automedicación en una farmacia comunitaria de la ciudad de Toluca. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 40 (1): 5-11.
- Halling-Sbrensen B, Nor Nielsen S, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lqtzhoft HC, Jbrgensen SE., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review. *Chemosphere*. 36:357– 93.
- Halling-Sorensen, B. 2000. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming, *Chemosphere* (40) 731–739.
- Hayashi, Y., Heckmann, L.H., Callaghan, A., Sibly, R.M., 2008. Reproduction recovery of the crustacean *Daphnia magna* after chronic exposure to ibuprofen. *Ecotoxicology*. 17; 246–251.
- <http://www.anafarmex.com.mx>
- Iannacone, J. y Alvaríño, L. 2009. Aquatic risk assessment of seven pharmaceutical products on *Daphnia magna*. *Ecología Aplicada*, 8(2); 71-80 p.

- Isidori, M., Lavorgna, M., Nardelli, A., Pascarella, L. y Parrella A. 2005. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment* 346; 87– 98
- Instituto Nacional de Salud Publica, 2010. Web: <http://www.insp.mx/>
- Jemba, P. 2006. Excretion and ecotoxicology of pharmaceutical and personal careproducts in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63:113-130.
- Jones, O.,A.,H., Voulvoulis, N. y Lester, J.N. 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals, *Water Research* (36) 5013–5022.
- Jones, O., Voulvoulis, N., Lester, J. 2004. Potential ecological and human health risks associated with the presence of pharmaceutically active compounds in the aquatic environment. *Critical reviews in Toxicology*, 34 (4): 335-350.
- Koste, W.: 1978. Rotatoria. Die Radertiere Mitteleuropas. EinBestimmungswerkbegründet von Max Voigt.Borntrager. Stuttgart, 2 Vols.
- Krebs, C. J. 1985.*Ecology; Population biology; Biogeography; Methodology*.Harper & Row (New York). 800 p.
- Kümmerer K. 2001b. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources—a review. *Chemosphere*; 45:957– 69.
- Nandini, S., S.S.S. Sarma & P. Ramírez-García. 2005. Seasonal variations in the species diversity of planktonic rotifers in Lake Xochimilco, Mexico. *Journal of Freshwater Ecology*. 20: 287-294.
- Nogrady, T., R. L. Wallace y T. W. Snell. 1993. Guides to the identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World. Rotifera 1. Biology, Ecology and Systematics.SBP Academic Publishers, The Hauge, Netherlands.142p.
- OMS (organización Mundial de la Salud) Formulario Modelo de la OMS,[en línea] 2004.Web: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Js5422s/14.2.html>
- Pascoe, D., Karntanut, W., Müller, C.T. 2003. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere* 51; 521– 528 p.
- Rao, T. R., y Sarma. 1985. Mictic and amictic modes of reproduction in the rotifer *Brachionus patulus*. *Current Science*, (54) 499-501 p.
- Ramírez-Pérez, T., Sarma, S.S.S., y Nandini S. 2004. Effects of mercury on the life table demography of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Ecotoxicology*. (13): 535-544.
- Sánchez Rodríguez, M.R., Lugo Vázquez, A., Oliva Martínez, M.G., García, J., Rodríguez, R.A., Soriano Peralta, L. 2011. Planktonic ciliates in a hypertrophic pond: Functional role and importance. *Journal of environmental biology*. (32): 497-503.
- Sarma, S. S. S. 1991. Rotifers and aquaculture (Review). *Environmental Ecology*. 9:414-428.
- Sarma, S.S.S.. Araiza, M.A.F. y Amador-López, R.J. 1997.Influence of food concentration and inoculation density on the population growth of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera).*Environmental Ecology*. 15: 435-441
- Sarma, S.S.S., y Nandini, S. 2006. Ratio of neonate to adult size explains life history characteristics in cladoceran zooplankton. *Hidrobiología*. (34): 474-479.
- Sarma S.S.S., Martínez-Jerónimo, Ramírez-Pérez T. y Nandini S. 2006 Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus*

- calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health Part A* 41(4): 543-558
- Sarma S.S.S., Serranía-Soto C. y Nandini, S. 2008 Diversidad de Rotíferos en el Estado de México. In: Biodiversidad del Estado de México. Government of the State of Mexico, Mexico: 1-6 p.
- Scholten, M.C., Foekema., E. M., Dokkum, Van, R. G. 2005. Eutrophication management and Ecotoxicology. Springer. Alemania. 122 pp.
- SEMARNAT (secretaría de medio ambiente y recursos naturales) .2007. Página de la Semarnat, Comisión del agua (CNA). Disponible en:<http://www.infoagua.org/cuanta-agua-tiene-mexico.html>
- Snell, T. W. y Janssen, C., 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*. 313/314, 231–247.
- Snell, T. W. y Joaquim-Justo, C. 2007. Workshop on rotifers in ecotoxicology. *Hidrobiologia*. 593; 227-232.
- Sanderson, H., y Thomsen, M. 2009. Comparative analysis of pharmaceuticals versus industrial chemicals acute aquatic toxicity classification according to the United Nations classification system for chemicals. Assessment of the (Q)SAR predictability of pharmaceuticals acute aquatic toxicity and their predominant acute toxic mode-of-action. *Toxicology Letters*. (187):84-93.
- Sunyoung, H., Kyungho, C., Jungkon, K., Kyunghee, J., Sunmi, K., y Byeongwoo A., Junheon Y., Kyunghee, C., Jong Seong, K., Xiaowei, Z., John, P. G. 2010. Endocrine disruption and consequences of chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka (*Oryziaslatipes*) and freshwater cladocerans *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. *Aquatic Toxicology* 98;256–264 pp.
- Ternes, T., A. 1998. Occurrence of drugs in german sewage treatments plants and rivers. *Water Research*. 32:3245– 60.
- Togola, A. y Budzinski, H., 2008. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. *Journal of Chromatography A* (1177)150–158.
- Valdés-Alanís, A. 2009. Evaluación de la toxicidad producida por diclofenaco sobre *Daphnia magna*. (Grado de maestro en ciencias Quimiobiológicas- Instituto Politecnico Nacional), {En línea} http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/evaluaciontoxicidad-producida-diclofenaco-daphnia-magna/id/52610206.html.
- Wallace, R. L. 1998. Rotifera. In E. Knobil and J. D. Neil (eds.), *Encyclopedia of reproduction*, Vol. 4, pp. 118–129. Academic Press, San Diego.
- Wallace, R. L. y Snell, T. W.. 2001. Phylum Rotifera. In J. Thorpe and A. Covich (eds.), *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*.
- Wallace, R.L., 2002. Rotifers: exquisite metazoans. *Integrative and Comparative Biology* 42, 660–667. *Water Resources Development*. 26, 477–493.
- Winkler, M., Lawrence, J.R., Neu, T.R., 2001. Selective degradation of Ibuprofen and Clofibric acid in two model river biofilm systems. *Water Research*. 35, 3197–3205.
- Weber, C. I. 1993 Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. 4th ed. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, EPA/600/4-90/027F. 293 p.
- Yong-Ju, L., Sung-Eun, L., Dong Soo, L., y Yong-Hwa, K. 2008. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. (26) 216-221.

Zalewski, A., Wagner, N.D. y Frost, P. C. 2011. Antibiotics affect the growth responses of *Daphnia magna* to poor food quality. *Aquatic Ecology*. (45)493–504.

ANEXOS

Anexo 1. Medio Bold Basal

Preparación de agua reconstituida con dureza moderada, empleado como medio de cultivo, además utilizado como medio de dilución para pruebas ecotoxicológicas.

La preparación del medio se baso en la propuesta de

- 1.- NaNO_3 250gr L^{-1}
- 2.- MgSO_4 75gr L^{-1}
- 3.- K_4HPO_4 75gr L^{-1}
- 4.- KH_2PO_4 75gr L^{-1}
- 5.- NaCl 75gr L^{-1}
- 6.- EDTA 50gr + 31 gr de KOH L^{-1}
- 7.- FeSO_4 4.98gr L^{-1} + (1ml 31 gr de H_2SO_4 L^{-1})
- 8.- H_3BO_3 1.42gr L^{-1}
- 9.- CaCl_2 25gr L^{-1}
- 10.-Elementos traza:
 - a) ZnSO_4 8.82gr L^{-1}
 - b) MnCl_2 1.44gr L^{-1}
 - c) MoO_3 0.71gr L^{-1}
 - d) CuSO_4 1.75gr L^{-1}
 - e) $\text{Co}(\text{NO}_3)$ 4 0.49gr L^{-1}

Para el cultivo de microalgas se realizo en recipientes con una capacidad de 2 L, en donde las tapas de cada recipiente deben de tener dos perforaciones. Para comenzar, se realiza una solución en la cual se tomaran 30 mL de cada uno de los nutrientes (1-10). Posteriormente se toman 30 mL y se transfieren a cada uno de los recipientes.

A cada botella (recipiente) se le agregaran 1.8 L de agua destilada y posteriormente se le serán adicionados de 5 a 10 mL de cultivo puro de alga (*Chlorella vulgaris*). Sin embargo, se revisara previamente la muestra del cultivo de *C. vulgaris* para verificar que no exista la presencia de algún contaminante. Posteriormente a cada botella se aplicara cada tercer día, 0.5 mL de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y finalmente se coloca un dispositivo de aireación (tubo de vidrio y manguera) y se mantiene en condiciones de luz constante.

Anexo 2. Fotos *Brachionus calyciflorus* (Pallas, 1776)



Anexo 2. Fotos de *Brachionus havanaensis* (Rousselet, 1911)

