TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

PROYECTO DE TESIS DOCTORAL

EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE DIVERSOS METALES EN UNA BATERÍA DE ORGANISMOS DULCEACUÍCOLAS.

Tesis que presenta:

M. en C. Gustavo Emilio Santos Medrano

Para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas

Director de Tesis: Dr. Roberto Rico Martínez

Asesor Interno: Dra. Elsa Marcela Ramírez López

Asesor Externo: Dra. Judith Virginia Ríos Arana

Aguascalientes, Ags. México. Febrero 2013.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Roberto Rico Martínez, mis asesores Dra. Elsa Marcela Ramírez López y Dra. Judith Virginia Ríos Arana, por su paciencia y comprensión para lograr el trabajo final.

Mis compañeros del edificio 60 donde realice el trabajo experimental, Martha Evelia Pérez Reyes, Alejandro Pérez Legaspi, Susana Ríos y Daniel Robles Vargas y José Silvestre Delgadillo.

A CONACYT (Ref. 209263) por el otorgamiento de la beca para realizar los estudios.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

DEDICATORIA

A mis padres Gustavo Santos† y Gloricela Medrano, por todo su apoyo, cariño y confianza que me han dado toda su vida.

A mi esposa, compañera y amiga Saraí Hernández por estar siempre conmigo.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE AGUASCALIENTES

M. en C. José de Jesús Ruiz Gallegos
Decano del Centro de Ciencias Básicas
PRESENTE

Estimado M. en C José de Jesús Ruiz Gallegos:

Por medio de este mensaje doy el visto bueno a la tesis de doctorado titulada "EFECTOS AGUDOS Y CRONICOS DE DIVERSOS METALES EN UNA BATERIA DE ORGANISMOS DULCEACUICOLAS", del M. en C. Gustavo Emilio Santos Medrano quien es alumno regular de nuestro programa de Doctorado en Ciencias Biológicas. Dicho trabajo ya fue revisado por los dos codirectores de la tesis y Gustavo ya hizo los cambios que se le propusieron.

Sin otro asunto que tratar, no me resta sino enviarle un afectuoso saludo.

ATENTAMENTE
Aguascalientes, Ags., a 29 de enero de 2013
"SE LUMEN PROFERRE"

Dr. Roberto Rico Martínez
Profesor-Investigador Titular "C"
Centro de Ciencias Básicas
Departamento de Química
Tel. (449) 9108420
Fax (449) 9108401
E-mail: rrico@correo.uaa.mx

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE AGUASCALIENTES

Centro de Ciencias Básicas

M. en C. GUSTAVO EMILIO SANTOS MEDRANO,
ALUMNO (A) DEL DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E .

Estimado (a) alumno (a) Santos:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: **"Efectos agudos y crónicos de diversos metales en una batería de organismos dulceacuícolas"**, hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

A T E N T A M E N T E
Aguascalientes, Ags., 29 de enero de 2013.
"SE LUMEN PROFERRE"
EL DECANO SUSTITUTO

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES
CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

c.c.p.- Archivo
JJRG,mjda

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
PRESENTE

Estimado Sr. Decano,

Por medio de la presente doy el visto bueno para que se imprima la tesis de doctorado titulada "EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE DIVERSOS METALES EN UNA BATERÍA DE ORGANISMOS DULCEACUÍCOLAS", del M. en C. Gustavo Emilio Santos Medrano quien es alumno regular de nuestro programa de Doctorado en Ciencias Biológicas.

Sin otro particular, le envío mis respetuosos y cordiales saludos.

ATENTAMENTE
Aguascalientes, Ags., a 29 de enero del 2013
SE LUMEN PROFERRE

Elsa Marcela Ramírez López.

Dra. en C. Elsa Marcela Ramírez López
Profesora - investigadora

Centro de Ciencias Básicas, Departamento de Ingeniería Bioquímica,
Av. Universidad No. 940, Ciudad Universitaria, 20131, Aguascalientes, Ags.
Teléfono: 01 (449) 910 8426, Fax: 01 (449) 910 8401
Correo electrónico: emramir@correo.uaa.mx

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Instituto de Ciencias Biomédicas

Departamento de Ciencias Químico-Biológicas

UACJ
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ

Cd. Juárez, Chih., A 29 de Enero del 2013

M. en C. José de Jesús Ruiz Gallegos
Decano del Centro de Ciencias Básicas
PRESENTE

Estimado M. en C José de Jesús Ruiz Gallegos:

Por medio del presente autorizo la impresión de la tesis de doctorado titulada "EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE DIVERSOS METALES EN UNA BATERÍA DE ORGANISMOS DULCEACUICOLAS", del M. en C. Gustavo Emilio Santos Medrano quien es alumno regular del programa de Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Sin más por el momento y enviándole un afectuoso saludo se despide de Usted,

ATENTAMENTE

Dra. Judith Virginia Ríos Arana
Instituto de Ciencias Biomédicas
Depto. de Ciencias Químico Biológicas
Profesor-Investigador Titular "C"
Tel. (656)688-1800 Ext. 1560
E-mail: jrios@uacj.mx

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

HIDROBIOLOGICA
Revista del Departamento de Hidrobiología de la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa

México, D. F., a 7 de enero de 2013.

GUSTAVO SANTOS MEDRANO
Centro de Ciencias Básicas
Departamento de Química
Universidad Autónoma de Aguascalientes

P R E S E N T E:
Distinguido Dr. Santos Mendrano:

A nombre del Comité Editorial de *Hidrobiológica* le informo a usted que el manuscrito firmado por: Santos-Medrano Gustavo Emilio y Rico-Martínez Roberto, con número de referencia **AMB1811**, titulado:

"Lethal effects of five metals on the freshwater rotifers *Asplanchna brigthwellii* and *Brachionus calyciflorus*"

Ha sido aceptado para su publicación como artículo científico y aparecerá en el siguiente volumen de *Hidrobiológica*. Asimismo, le comento que el costo por página será de $500.00 M.N.

La cuota deberá ser cubierta una vez que usted nos devuelva las pruebas de galera corregidas, mismas que en su oportunidad le haremos llegar.

Hidrobiológica le agradece haber optado por esta revista para la difusión de sus investigaciones y le invitamos a mantener esta colaboración.

Reciba un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Dra. Ma. Esther A. Meave del Castillo
Editora en Jefe, Revista Hidrobiológica
Dpto. de Hidrobiología, UAM-Iztapalapa

UNIDAD IZTAPALAPA
Departamento de Hidrobiología. Av. San Rafael Atlixco No. 186 Col. Vicentina. A.P. 55-535 C.P. 09340
México, D.F. Fax: 5558044738 Tel. 5558046475 E-mail: mem@xanum.uam.mx

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN……..1

2. METALES……..9

2.1 ALUMINIO……12

2.2 CADMIO……....12

2.3 HIERRO……13

2.4 PLOMO…….....14

2.5 ZINC……...16

3. JUSTIFICACIÓN……...18

4. HIPÓTESIS……..19

5. OBJETIVO GENERAL……19

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS……....19

7. METODOLOGÍA……20

7.1 PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA……...20

7.2 CLADÓCEROS…….....20

7.3 ROTÍFEROS……20

7.4 ALGAS……..21

8. PRUEBAS CRÓNICAS……21

8.1 Prueba de toxicidad por exposición crónica que mide la inhibición de la tasa intrínseca de crecimiento (*r*)……21

8.2 PRUEBA DE 21 DÍAS CON *Daphnia magna* y *Daphnia pulex*……22

8.3 PRUEBA DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO EN LAS ALGAS *Selenastrum capricornotum* y *Nannochloropsis oculata*……..22

9. RESULTADOS……23

9.1 PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA……23

9.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD CRÓNICA……41

10. DISCUSIÓN……..59

10.1 TOXICIDAD AGUDA……59

10.2 TOXICIDAD CRÓNICA……60

11. CONCLUSIÓN……..62

12. REFERENCIAS……64

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Valores de toxicidad aguda con *A. brightwelii* con cinco metales……..23
Cuadro 2. Valores de toxicidad aguda con *B. calyciflorus* con cinco metales……..26
Cuadro 3. Valores de toxicidad aguda con *D. magna* con cinco metales…….....29
Cuadro 4. Valores de toxicidad aguda con *D. pulex* con cinco metales……..32
Cuadro 5. Valores de toxicidad aguda con *N. oculata* con cinco metales……...35
Cuadro 6. Valores de toxicidad aguda con *S. capricornotum* con cinco metales…..38
Cuadro 7. Valores de toxicidad crónica con *A. brightwelii* con cinco metales…….41
Cuadro 8. Valores de toxicidad crónica con *B. calyciflorus* con cinco metales……44
Cuadro 9. Valores de toxicidad crónica con *D. magna* con cinco metales……47
Cuadro 10. Valores de toxicidad crónica con *D. pulex* con cinco metales……..…50
Cuadro 11. Valores de toxicidad crónica con *N. oculata* con cinco metales…..…….53
Cuadro 12. Valores de toxicidad crónica con *S. capricornotum* con cinco metales…….56

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….23
Figura 2.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……...24
Figura 3.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….24
Figura 4.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….25
Figura 5.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….25
Figura 6.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……26
Figura 7.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….27
Figura 8.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….27
Figura 9.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….28
Figura 10.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….28
Figura 11.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……...29
Figura 12.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……...30
Figura 13.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……...30
Figura 14.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……...31
Figura 15.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento……...31
Figura 16.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….32

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Figura 17.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….33
Figura 18.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….33
Figura 19.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….34
Figura 20.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento…….34
Figura 21.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h…….35
Figura 22.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h…….36
Figura 23.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h……36
Figura 24.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h…….37
Figura 25.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h…….37
Figura 26.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h……..38
Figura 27.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h……..39
Figura 28.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h……..39
Figura 29.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h……..40
Figura 30.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h……..40
Figura 31.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus*……..41

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Figura 32.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus*……..42
Figura 33.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus*……..43
Figura 34.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus*……..43
Figura 35.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus*……..43
Figura 36.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*……..44
Figura 37.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*……..45
Figura 38.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*……..45
Figura 39.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*……..46
Figura 40.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*……..46
Figura 41.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*……47
Figura 42.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*……48

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Figura 43.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……48

Figura 44.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……49

Figura 45.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……49

Figura 46.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……...50

Figura 47.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……...51

Figura 48.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……...51

Figura 49.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……...52

Figura 50.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 1x10^6 cels/ml del alga *S. capricornotum*……...52

Figura 51.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs……....53

Figura 52.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs……54

Figura 53.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs……....53

Figura 54.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs……55

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Figura 55.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs……55
Figura 56.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs……56
Figura 57.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs……57
Figura 58.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs……57
Figura 59.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs……58
Figura 60.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs……...58

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

RESUMEN

La toxicología trata de explicar y predecir los cambios que acontecen a nivel poblacional en relación a los efectos tóxicos sobre la supervivencia, crecimiento, reproducción, fisiología y comportamiento de los individuos que componen la población expuesta.

En este estudio se realizaron una serie de pruebas agudas y crónicas con organismos dulceacuícolas de diferentes niveles tróficos con el fin de evaluar el efecto de cinco metales (Al, Cd, Pb, Fe y Zn).

Se emplearon dos especies de rotíferos, *Asplanchna brightwelii,* que tiene la característica de ser depredador, siendo una de sus presas el rotífero *Brachionus calyciflorus*. En ambos organismos se realizaron bioensayos de toxicidad aguda en un tiempo de 24 horas, y las pruebas crónicas de cinco días que consistieron en evaluar la tasa intrínseca de crecimiento (r).

En las especies de cladóceros *Daphnia magna* y *D. pulex* se efectuaron pruebas agudas de 24 horas y pruebas crónicas con duración de 21 días para evaluar la tasa r.

Se seleccionaron dos especies de algas, *Selenastrum capricornotum* y *Nannochloropsis oculata,* los efectos de los metales se evaluaron a través de los niveles de fluorescencia que producen de manera natural las algas.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ABSTRACT

Toxicology seeks to explain and predict the changes occurring at the population level in relationship to the toxic effects on survival, growth, reproduction, physiology and behavior of individuals in the population exposed.

In this study, a series of acute and chronic tests with freshwater organisms of different trophic levels in order to evaluate the effect of five metals (Al, Cd, Pb, Fe and Zn). We used two species of rotifers, *Asplanchna brightwelii* which has the characteristic of being predator, and its rotifer prey the rotifer *Brachionus calyciflorus*. In both organisms acute toxicity bioassays conducted in a time of 24 hours, and the five-day chronic tests to evaluate the intrinsic growth rate (r).

In cladoceran species *Daphnia magna* and *D. pulex* acute tests were performed 24 hours and chronic tests with duration of 21 days to evaluate the rate r.

We selected two species of algae, *Selenastrum capricornotum* and *Nannochloropsis oculata*, the effects of metals were evaluated through fluorescence levels that naturally occurring in algae.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

1. INTRODUCCIÓN

El acelerado aumento de la población humana impone una demanda creciente sobre los ecosistemas acuáticos continentales. En consecuencia, mundialmente la construcción de embalses para producción de energía, agricultura, pesquería u otros fines avanza a un ritmo acelerado desde hace muchos años, y también existe una sobreexplotación de la mayoría de los ríos y arroyos. En concordancia con una toma de conciencia sobre diferentes aspectos ecológicos, surge la necesidad de evaluar y predecir cambios potencialmente adversos sobre el ambiente. Todo cuerpo de agua natural es en realidad un sistema complejo e interactivo que contiene sustancias en solución o en suspensión.

La composición de la biota de un ambiente acuático lotico o lentico esta determinadas por las condiciones ambientales que llevan al hecho de que algunas especies sean mas o menos dominantes. La producción primaria (principalmente por actividad fotosintética) y la degradación de la materia orgánica son resultantes de la actividad de microorganismos, principalmente algas y bacterias. El componente biológico de los ambientes acuáticos presenta cadenas tróficas, que en algunos casos llegan a ser bastante complejas por la diversidad de organismos involucrados. Las sustancias orgánicas presentes en el agua se mineralizan a través de diversos organismos, transformándose en nutrientes, que son liberados al medio y soportan la productividad primaria del sistema, representada por organismos con clorofilas, como las algas y plantas acuáticas, que a su vez proveen la materia orgánica y parte del oxígeno para el resto de la cadena alimenticia, compuesta generalmente por distintos micro- y macro-invertebrados, anfibios y peces. Cuando, por efecto de la actividad humana, se aumenta el ingreso de la materia orgánica al sistema, se provocan cambios en el equilibrio original que desembocan en un aumento en las poblaciones o en alteraciones de la biota original, lo que a su vez genera gran consumo de oxígeno y mas producción de dióxido de carbono, incrementando el volumen total de biomasa. Cuando a lo anterior se agregan bacterias no usuales en aguas limpias, como las de origen cloacal, la calidad de agua se deteriora marcadamente.

Para establecer criterios de calidad de agua se llevan a cabo estudios cuidadosos y prolongados que permiten finalmente fijar valores-guía en la estimación de los parámetros más significativos para evaluar la calidad de agua y los niveles a admitir para cada uno de ellos. La introducción de un determinado desecho antropogénico puede o no producir desequilibrios en un ecosistema que conduzcan a su deterioro. Para cada

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

desecho existe una concentración umbral, por encima de la cual se detectan los efectos responsables de dichos desequilibrios (Cairns, 1986). En general, los sistemas naturales poseen la capacidad de soportar alteraciones debidas a la presencia de agentes extraños mediante los procesos internos de autodepuración. El deterioro de un ecosistema se produce cuando la cantidad y calidad de desechos introducidos superan su capacidad de recuperación (Tortorelli y Hernández, 1995).

En algunos países como Estados Unidos y Canadá las pruebas de toxicidad de descargas en los ambientes acuáticos han sido una parte integral de los controles de regulación para proteger al ecosistema. Para regular las descargas de aguas residuales tóxicas hay que utilizar datos de ensayos de toxicidad realizados con organismos vivos, además de efectuar estudios detallados de las características físicas y químicas de los contaminantes y de los cambios que ocurren después de su descarga en el medio. Cuando se puedan describir con precisión en términos químicos y físicos los componentes tóxicos de un contaminante y se disponga de técnicas analíticas pertinentes así como de información adecuada acerca de la toxicidad de esos componentes en los organismos acuáticos, se podrán establecer normas para tales contaminantes en valores numéricos para los componentes tóxicos (FAO, 1981).

La toxicología acuática creció a partir de dos disciplinas: la biología de la contaminación del agua y la limnología. Los primeros estudios comprendieron investigaciones básicas para definir e identificar la biología y morfología de los lagos, arroyos y ríos. Estos estudios incluían investigaciones sobre plantas, animales, y microorganismos que interactúan para tratar biológicamente aguas residuales y de esta manera reducir la contaminación orgánica. Por ejemplo, el papel de las bacterias en el proceso de nitrificación fue demostrado en 1877 por Schoesing y Muntz (1877). Stephen Forbes se le reconoce como uno de los primeros investigadores en integrar a las comunidades biológicas y relacionarlas con los factores abióticos en un ecosistema acuático. Kolwitz, Masson y Richardson realizaron un estudio para clasificar a los ríos dentro de zonas de contaminación basados en la presencia o ausencia de especies tolerantes a lo que a llevado a aceptar la creencia de que la presencia o ausencia de especies (especialmente poblaciones o comunidades) que viven en un ecosistema dado les provee una mayor sensibilidad e indicador seguro de las condiciones ambientales adecuadas mas que las mediciones físicas y químicas (Hoffman *et al*., 2003).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

De esta manera se ha hecho un gran esfuerzo durante muchos años en investigar organismos que sean sensibles a factores ambientales y cambios en estos parámetros. Este esfuerzo ha consistido en intentar cultivar y probar organismos con estas características en el laboratorio. El fundamento de esta creencia ha sido que los organismos evaluados bajo condiciones de laboratorio proporcionan un significado para evaluar efectos observados en ecosistemas naturales y predecir efectos de perturbaciones naturales y humanas. La toxicología acuática evolucionó mas allá de estos estudios y se ha concentrado en estudiar los efectos de agentes tóxicos (químicos, temperatura, OD, pH, etc.) sobre la vida acuática (Hoffman *et al*., 2003), desde nivel subcelular hasta organismos individuales, poblaciones y ecosistemas.

El propósito de las pruebas de toxicidad es obtener información útil para lograr la protección de los organismos acuáticos de una especie determinada o de todas las comunidades que integran la biota de un ecosistema, de los peligros ocasionados por las substancias peligrosas arrojadas al ambiente por el hombre. Por lo tanto las pruebas de toxicidad son herramientas necesarias si queremos evaluar los riesgos potenciales producidos por el estrés antropogénico en ecosistemas acuáticos (Snell y Janssen, 1998). Estas pruebas usadas en toxicología acuática han puesto un gran énfasis en los estudios con peces ignorando en ocasiones los beneficios producidos con el uso de organismos de menor tamaño. El uso de estos organismos (“microscale testing”) ha reducido los costos y mejorado la velocidad y simplicidad de la pruebas de toxicología acuática (Snell y Jassen, 1998).

Las pruebas de toxicidad con agentes contaminantes en organismos vivos bajo condiciones de laboratorio, se han incrementado en estos últimos tiempos debido a la brevedad con que se obtiene la información sobre las dosis letales y subletales (CL50) que afectan negativamente organismos en los ambientes marinos, estuarinos (Villamar, 1996) y dulceacuícolas.

Estas pruebas permiten evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene en organismos vivos y éstos pueden ser agudos o crónicos. Las pruebas agudas cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a una especie en particular. El valor calculado se denomina concentración letal media (CL50) y corresponde a la concentración de un xenobiótico que causa la muerte al 50 % de la población experimental al cabo de un tiempo determinado, generalmente en 48 o 96 horas. En contraste, las pruebas crónicas estiman la concentración – efecto media (CE50) de la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sustancia de prueba que causa un efecto al 50 % de la población experimental, al cabo de un tiempo determinado (Rodríguez y Esclapés, 1995).

La captación y utilización de zooplancton como biomonitores data desde comienzos de siglo XX (Sosnowski *et al*., 1979), hoy en día, gracias al desarrollo de técnicas para su cultivo en el laboratorio, representa una herramienta que gana cada vez más reconocimiento en la evaluación ecotoxicológica (Maciorowski, 1981).

Al usar organismos provenientes directamente del hábitat natural, los resultados pueden verse distorsionados por fuentes de variabilidad no previstas, como nutrición y dinámica de la población, estrés por depredación, etc. (Sosnowski *et al*., 1979). Estas variables pueden ser controladas o eliminadas en las poblaciones de laboratorio; además, el entrecruzamiento consanguíneo que ocurre a lo largo del tiempo en esas poblaciones, resulta en una considerable reducción de la variabilidad genética (Lewontin, 1974).

A causa de la complejidad del ambiente acuático y de las comunidades biológicas que lo integran es difícil establecer el grado de deterioro que afecta a las especies o comunidades acuáticas. Por esta razón es conveniente realizar pruebas utilizando organismos vivos en condiciones controladas de laboratorio. Sin embargo, el objetivo primordial de una prueba toxicológica es reflejar la realidad de cómo afectaría a los organismos vivos en su medio natural y para ello es necesario paralelamente investigar continuamente las comunidades en su propio hábitat (Villamar, 1996).

Los ensayos de toxicidad con organismos acuáticos son métodos reconocidos por la comunidad científica internacional y empleados en muchos países como herramienta para el monitoreo y control de la contaminación hídrica.

Dentro de los organismos comúnmente utilizados en los bioensayos de toxicidad se encuentran los cladóceros, también llamados pulgas de agua. Los cladóceros son crustáceos pequeños que constituyen la mitad de la Clase Branchiopoda (Ruppert y Barnes, 1996).

Debido a su importancia ecológica y su sensibilidad a ambientes intervenidos, se les considera especies indicadoras de condiciones ambientales adversas. Además, por ser organismos de fácil mantenimiento bajo condiciones de laboratorio, normalmente se utilizan en pruebas de toxicidad acuáticas. En nuestro país existen numerosas especies de cladóceros que habitan los lagos naturales y artificiales, zonas inundables y charcas temporales (Rodríguez y Esclapés, 1995).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La importancia de los cladóceros en sistemas acuáticos esta bien documentada desde 1883 (Pennak, 1989). Tienen un papel significativo en la cadena alimenticia, en la dinámica del fitoplancton y protozoarios (Pennak, 1989, Burton y Leibfritz-Frederick, 1990). Algunas especies son filtradores selectivos mientras otras como *Daphnia magna* no es selectivo. Existe una amplia base de datos de toxicidad de muchos compuestos para *Daphnia magna* y su sensibilidad es comparada con otros organismos tales como peces, rotíferos, copépodos (Neiderlehner *et al*. 1984). *Daphnia* está reconocida como una especie muy útil en pruebas de toxicidad (Miller *et al*. 1985; Nebeker *et al*., 1984), debido a su sensibilidad a diferentes tóxicos y su fácil cultivo.

Los cladóceros son organismos partenogenéticos, es decir, tienen la habilidad de reproducirse sin machos. Esta habilidad simplifica significativamente su uso como organismos para bioensayos porque su período de reproducción es corto y simple (Henry, 1988). Estos organismos representan un eslabón importante dentro de la cadena trófica. El zooplancton, especialmente los depredadores tales como dáfnidos que se alimentan de algas, es un eslabón importante entre los productores primarios y los peces. Las comunidades acuáticas pueden sufrir un daño significativo por sustancias tóxicas, tales como sulfato de cobre, cuyo efecto toxico es mayor en el zooplancton que en los peces (Henry, 1988). En general, se ha encontrado que los cladóceros son más sensibles que los peces a las sustancias tóxicas (Henry, 1988). Los cladóceros tienen un sistema nervioso, lo cual sugiere la presencia de la acetilcolina (Ach), este neurotransmisor normalmente es hidrolizado por la acetilcolinesterasa, la cual es muy sensible a diferentes contaminantes, entre los que se pueden mencionar a los metales pesados, detergentes e hidrocarburos policíclicos (Martinez-Tabche *et al*., 1997). Los cladóceros son capaces de detectar la presencia de, por ejemplo, 0,005 mg. de mercurio en el agua, y aún menores concentraciones de numerosos pesticidas y residuos industriales (Paggi y de Paggi, 2000).

Daphnia magna y *Ceriodaphnia sp*., han sido usados ampliamente para pruebas toxicológicas y existe información sobre las técnicas de cultivo y la sensibilidad a las sustancias tóxicas. Los requisitos de temperatura, luz y nutrientes están bien definidos (Henry, 1988). Ambos cladóceros se pueden usar para realizar pruebas de suelo, sedimento y agua. Los cladóceros son de libre natación y, por lo tanto, son más apropiados para examinar agua y no sedimentos. Sin embargo, los dáfnidos también han

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sido usados satisfactoriamente para realizar pruebas con elutriados (Henry, 1988; Nebeker *et al*., 1984).

La toxicidad también se ha evaluado para un gran número de contaminantes ambientales mediante pruebas de toxicidad con rotíferos, las cuales comprenden estudios de reproducción asexual mediante técnicas como tablas de vida sobre hembras aisladas o utilizando parámetros de crecimiento poblacional como punto de referencia. También se han llevado a cabo pruebas de toxicidad en *Brachionus plicatilis* y *B. calyciflorus* donde se evalúan respuestas de comportamiento natatorio y/o ingestión tan sólo en minutos. Las pruebas de toxicidad donde se mide la actividad enzimática *in vivo* se ha reconocido como una herramienta útil para caracterizar la respuesta de invertebrados acuáticos a estresantes tóxicos. Esta técnica se ha aplicado a rotíferos planctónicos como *B. calyciflorus* y *B plicatilis* cuantificando la actividad de las esterasas y fosfolipasas A2 (Snell y Janssen, 1998).

Varios tipos de pruebas se han desarrollado con rotíferos y otros invertebrados dulceacuícolas para medir parámetros tan diversos como mortalidad, reproducción, comportamiento y fisiología, pruebas bioquímicas o moleculares, y microcosmos (Snell y Jassen, 1998). La velocidad de ingestión de los invertebrados es un parámetro toxicológico relevante y útil como lo han demostrados varios trabajos (Bernman y Heinle, 1980; Geiger y Buikema, 1981; Lampert *et al*., 1989; Fernández-Casalderry *et al*., 1994; Juchelka y Snell, 1995).

Los invertebrados acuáticos empleados para pruebas de toxicidad en un ecosistema, se ratifica dada la importancia de estos grupos como consumidores primarios dentro de las cadenas tróficas, también los respalda su gran sensibilidad hacia varios tóxicos, la cual en el caso de los rotíferos se encuentra por encima del promedio al compararla con otras especies acuáticas utilizadas (Burbank y Snell, 1994).

Evidentemente, invertebrados acuáticos (cladóceros y rotíferos) se han utilizado ampliamente para evaluar la toxicidad de contaminantes ambientales. Para el caso de rotíferos se ha observado que son organismos de prueba atractivos debido a su relevancia ecológica, características biológicas y facilidad de manejo (Jassen *et al*., 1993).

Las pruebas de toxicidad que emplean métodos para evaluar la velocidad de ingestión las cuales sugieren que este parámetro es útil como un indicador subletal para la evaluación de la toxicidad crónica y velocidad reproductiva (Juchelka y Snell, 1994). Juchelka y Snell (1994) reportan valores de CNOE (concentración máxima del tóxico en la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

que no se observa un efecto diferente al control) de la tasa de ingestión con mayor sensibilidad hacia mercurio, PCP, fenol, dimetilfenol, xileno, cloropirifos, naftol y cadmio con respecto a la CL50 para *Brachionus calyciflorus* (24h), con una correlación de 0.91 hacia estos componentes. Del mismo modo compararon valores de CNOE de la tasa de ingestión con respecto al CNOE reproductivo, observando que para el PCP, naftol y cloropirifos presentaban la misma sensibilidad; también se observó que el CNOE de la tasa de ingestión fue menos sensible que los CNOE reproductivos para algunos tóxicos, encontrando un coeficiente de correlación de 0.66, por lo tanto, estos autores mencionan que el CNOE de la tasa de ingestión es un buen pronosticador del CNOE de la tasa reproductiva. Por tanto, la entrada de energía ingerida determina la magnitud del gasto energético reproductivo para un animal bajo condiciones ecológicas especificas en las que se encuentra en individuo. Por ello Juchelka y Snell (1994) sugieren que la evaluación de la tasa de ingestión es un buen pronosticador de la reproducción futura y un punto de referencia relevante ecológicamente para la evaluación de la toxicidad.

El desarrollo de las pruebas de toxicidad durante la década pasada se enfocó en bioensayos enzimáticos y en bacterias en grupos en los que estas pruebas fueran mas rápidas que en los bioensayos tradicionales con peces e invertebrados que están basados en la mortalidad debida a la exposición de tóxicos (Bitton y Dutka, 1986; Bitton y Koopman, 1992). A pesar de la experiencia con pruebas de toxicidad microbianas y enzimáticas y su demostrada sensibilidad a una amplia variedad de tóxicos, los dáfnidos son más atractivos para realizar pruebas en corto tiempo. Esto es en parte porque, en el medio ambiente acuático, algunos químicos como los plaguicidas organofosforados son mucho más tóxicos para los dáfnidos que para microorganismos.

Las pruebas de toxicidad aguda usando *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia dubia* requiere de una exposición de tiempo de 48 h y el parámetro a determinar es la mortalidad (inmovilización) (Bitton y Dutka, 1986; Bitton y Koopman, 1992). El uso de parámetros alternativos en bioensayos con invertebrados que pueden llevarse a cabo en tiempos cortos ha sido poco estudiado (Aqua Survey Newsletter, 1991; Janssen y Persoone, 1993). Existen pruebas que usan la actividad de alimentación como parámetro en pruebas de toxicidad, que se basan en la presencia de fluorescencia en el intestino del organismo (Bitton *et al*., 1995). Existen otras pruebas de ingestión utilizando microoesferas fluorescentes en rotíferos (Juchelka y Snell, 1994).

Un cambio en la dinámica de población en *Daphnia* spp, debido a la reducción en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

la tasa de alimentación sería ecológicamente importante porque cambiaría potencialmente la estructura y función de la comunidad. Varios estudios han demostrado que el daño tóxico en las tasas de alimentación a nivel individual tiene efectos directos sobre los parámetros de población tal como crecimiento y reproducción (Bradley *et al*., 1991; Enserink, 1995) y efectos indirectos sobre la estructura de la comunidad debido al incremento dela biomasa del fitoplancton (Day *et al*., 1987; Jak, 1997).

El daño en la tasa de alimentación parece ser una respuesta general a la exposición tóxica. Allen *et al*., (1995) demostró una importante reducción en las tasas de alimentación después de exponer a *Daphina magna* a tóxicos.

Se ha demostrado que los sedimentos contaminados son tóxicos para los organismos que viven en ellos. La exposición a sedimento contaminado puede ocasionar una disminución en la sobrevivencia, reducir el crecimiento, o impedir la reproducción en invertebrados bentónicos y peces. Además ciertos sedimentos asociados son captados por los organismos a través de procesos de bioacumulación. Cuando los animales se alimentan de sus presas contaminadas, los contaminantes son llevados hacia el interior del cuerpo y son transferidos a otros animales a través de la cadena alimenticia en un proceso llamado biomagnificación. Como resultado, los organismos bentónicos, peces, aves y mamíferos pueden ser afectados adversamente por los sedimentos contaminados. La contaminación de sedimentos puede también comprometer la salud humana debido a su exposición directa o a través del consumo de pescado y mariscos contaminados. Los usos humanos de ecosistemas acuáticos también pueden verse afectados por la presencia de contaminación en los sedimentos a través de la reducción en la abundancia de especies de peces alimenticias y deportivas o debido a la imposición de advertencias en el consumo de peces. Por lo tanto los sedimentos contaminados en ecosistemas de agua dulce representan un peligro potencial para los organismos que habitan en los sedimentos (por ejemplo especies de invertebrados epibénticos e infaunales), especies silvestres acuático-dependientes (por ejemplo peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos) y la salud humana.

La degradación de las comunidades bentónicas (resultado de la exposición directa a sedimentos contaminados) y de otros factores ha contribuido al daño de peces y poblaciones silvestres. Además, en peces de áreas con sedimentos contaminados se ha observado alta incidencia de tumores y otras anormalidades (McDonald y Ingersoll, 2002).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Otros organismos que tienen una gran importancia en los ecosistemas acuáticos, incluye al fitoplancton que constituye el primer eslabón de la cadena trófica (Nyholm y Källqvist, 1989); es por ello que al alterarse la composición de la comunidad de microalgas, como resultado de estrés toxicológico, se modifica la estructura y la función de todo el sistema (Prósperi, 2000). Las investigaciones recientes han perfeccionado la metodología para la realización de pruebas de toxicidad con microalgas (Siangdung *et al*. 1994).

Las pruebas de toxicidad con algas fueron usadas desde 1910 por Allen y Nelson. Muchas pruebas crónicas con algas son para evaluar efectos por periodos de 3 o 4 días. Las algas dulceacuícolas tienen una alta tasa de crecimiento bajo condiciones normales, por ejemplo, la densidad de *Selenastrum captricornutum* se incrementa de $1x10^4$ células/ml a $3.5x10^6$ células/ml después de 96 horas (U.S. EPA, 1985a). Existen varias especies que son recomendadas por su disponibilidad y facilidad de cultivo, entre ellas se encuentran *Selenastrum capricornutum* (U.S. EPA, 1971a,b, 1974), *Scenedesmus subspicatus* (OECD, 1984a), y *S. costatum, Anabaena* (Greeson, 1982).

Las algas reflejan varias respuestas a los tóxicos dentro de las cuales están, estimulación e inhibición del crecimiento y cambios fisiológicos o morfológicos.

Los efectos principalmente reportados son la inhibición en la reproducción basado en cambios en la biomasa, otras mediciones incluyen el cálculo de peso seco. Existen varias técnicas de microscopia para el conteo de células y son usadas para determinar o estimar cambios en la forma celular, color, tamaño y agregaciones algales poco usuales.

La biomasa también puede ser determinada por constituyentes celulares como la clorofila *a* que puede ser estimada por técnicas fluorométricas y espectrofotométricas (Rand, 1995).

2. METALES

En los sistemas acuáticos numerosas sales y sustancias se disuelven de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas. La presencia en el terreno de diferentes materiales y estructuras geológicas son fuente de una gran variedad de iones disueltos en aguas superficiales, los que nos permitirían saber, de no haber existido la actividad humana, que tipo de suelo atraviesa un cauce de agua. Algunos de estos iones se encuentran en forma mayoritaria, respecto a los demás elementos en todas las aguas continentales (Na^+, K^+,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Ca^{2}+, $Mg2^{+}$, Cl^{-}, $SO^{4-}{}_{2}$, $CO_3{}^{2-}$), mientras que otros se hallan a niveles de trazas, como es el caso de los metales pesados, siendo algunos de ellos necesarios para el correcto desarrollo de los microorganismos, plantas y animales.

La contaminación en los sistemas acuáticos se produce, bien por la presencia de compuestos o elementos que normalmente no estarían en forma natural o por un aumento o descenso de la concentración normal de las sustancias ya existentes debido a la acción humana. Unos de los componentes químicos potencialmente más tóxicos son los metales pesados: antimonio, arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, selenio y zinc principalmente. El aporte de estos metales al ciclo hidrológico procede de diversas fuentes, siendo una de ellas de origen litogénico o geoquímico a partir de los minerales que por causas de erosión, lluvias, etc. son arrastradas al agua. No obstante, actualmente la mayor concentración de los metales en los sistemas acuáticos es de origen antropogénico. La minería, los procesos industriales, los residuos domésticos son fuente importante de la contaminación, ya que aportan metales al aire, al agua y al suelo.

La importancia que tiene el estudio de metales pesados en aguas y sedimentos radica en su elevada toxicidad, alta persistencia y rápida acumulación por los organismos. Los efectos tóxicos de los metales pesados no se detectan fácilmente a corto plazo, aunque sí puede haber una incidencia muy importante a medio y largo plazo. Los metales son difíciles de eliminar del medio, puesto que los propios organismos los incorporan a sus tejidos y los transfieren a sus depredadores y que dependiendo de la dosis puede o no presentar efectos tóxicos. La toxicidad de estos metales pesados es proporcional a la facilidad de ser absorbidos por los seres vivos, un metal disuelto en forma iónica puede absorberse más fácilmente que en su forma elemental, mientras que la forma reducida aumentan las posibilidades de toxicidad por oxidación y retención del metal en los diversos órganos.

Al contrario que muchos contaminantes orgánicos los metales pesados, generalmente, no se eliminan de los ecosistemas acuáticos por procesos naturales debido a que no son biodegradables (Förstner y Prosi, 1979; Förstner y Wittmann, 1981; Murray, 1996). Por el contrario son muy contaminantes y sufren un ciclo global eco-biológico, donde las aguas naturales son el principal camino de almacenamiento. (Nürnberg, 1984). Los metales pesados tienen tendencia a formar asociaciones, con sustancias minerales (carbonatos, sulfatos, etc.) y en mayor grado con sustancias orgánicas, mediante fenómenos de intercambio iónico, adsorción, quelación, formación de combinaciones químicas, etc., por

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

lo que se acumulan en el medio ambiente, principalmente en los sedimentos de ríos, lagos y mares (Förstner y Wittmann, 1981; Dekov *et al*., 1998).

Hoy en día la concentración de metales tienen un gran significado como indicadores de la calidad ecológica de todo flujo de agua debido a su toxicidad y muy especialmente al comportamiento bioacumulativo (Purves, 1985).

Estos elementos por otra parte, pueden pasar fácilmente de la fase sólida a la líquida y viceversa en los sistemas acuáticos, debido a variaciones de los componentes bióticos y abióticos, lo que hace que los sedimentos no sean compartimentos estancados de metales. Pueden resolubilizarse por distintos fenómenos y así (generalmente en formas químicas diferentes) se incorporan directamente en diversos niveles de la cadena trofica incluyendo al hombre.

Las altas concentraciones de metales pesados en las aguas de corrientes fluviales asociados al azufre tales como el As, Cd, Cu, Pb y Zn pueden atribuirse a la minería y son causa del fuerte impacto en el medio ambiente (Salomons, 1995). En cambio, otros metales como el Cr, Ni y Hg posiblemente indican una contaminación antropogénica que están estrechamente asociados con las descargas industriales (Nelson y Lamothe, 1993; Fernández *et al*., 1997).

Los metales pesados en organismos acuáticos usualmente presentan toxicidad aún en concentraciones bajas. Los dos metales más tóxicos son mercurio y plata, y le siguen en orden decreciente de toxicidad; cobre, cadmio, zinc, y plomo. Las mezclas de tóxicos son más adversas a los organismos debido a que en muchos casos la toxicidad de metales es aditiva. Las membranas sensoriales son particularmente vulnerables a la toxicidad por metales ya que están actuando como interfases del organismo con el medio ambiente, carecen de integumento que las proteja, no tienen capacidades de destoxificación, y por tanto en muchas ocasiones son los sitios en los que ocurre el primer daño. Los quimoreceptores son bloqueados en segundos cuando son expuestos a concentraciones de 0.5 mg/l de plata, cobre o plomo en algunas especies de peces de ornato. También se habla que las temperaturas en las cuales los peces evitan nadar en ciertas aguas (avoidance tresholds) para estos tóxicos metálicos están en el rango de 1-45% del valor de CL50 (Rand, 1995).

Existen varios mecanismos por los cuales los organismos acuáticos adquieren tolerancia a las altas concentraciones de metales. Algunas poblaciones son resistentes a un determinado metal o mezclas de estos. Tal es el caso de poblaciones de las algas

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

verde *Chlorella* y *Scendesmus* que habitan el Lago Sudbury, en Canadá, este lago esta contaminado con cobre y níquel, y experimentos de crecimiento poblacional en presencia de estos metales mostró que habían adquirido resistencia a estos dos metales. El isópodo *Ascellus* que habita en los arroyos contaminados de las minas en Estados Unidos muestra una gran adaptación para resistir altas concentraciones de cobre y plomo (Rand, 1995). En la actualidad se están desarrollando modelos matemáticos basados en estudios de campo para determinar la relación entre la toxicidad de metales y la bioacumulación de estos más allá de sólo proveer de valores de bioconcentración obtenidos en campo ó laboratorio (Paquin *et al*., 2003). Estos estudios muestran que los factores de bioconcentración son importantes en ecotoxicología acuática y que estos factores deben de ser determinados en una fase del ecosistema en que este sea estable, de otra manera estos factores pierden relevancia (Walker *et al*., 2006).

2.1 ALUMINIO

El aluminio es un metal de alta toxicidad para los peces, siendo ésta mayor cuando el compuesto se halla en forma monomérica (Al^{+3}). La toxicidad del aluminio en los peces, depende de las propiedades físico-químicas del agua, particularmente del pH. A valores altos de pH, el aluminio precipita como hidróxido, el cual puede flocular en el agua. El aluminio floculado es mucho menos tóxico y es semejante al suspendido en los sólidos (Svobodová *et al*., 1993).

Algunos de los efectos tóxicos del aluminio en peces incluye, lesiones histopatológicas de las laminillas secundarias branquiales, hiperplasia e hipertrofia. Estas producen un incremento de la distancia de difusión del medio acuático a la sangre y en consecuencia una reducción del flujo a través del epitelio (Karlsson-Norrgren *et al*., 1986; Peuranen *et al*., 1993).

2.2 CADMIO

El cadmio se encuentra usualmente acompañando al zinc en aguas superficiales, pero en muy bajas concentraciones. Este metal se vierte en el ecosistema marino junto con el zinc de fábricas de plásticos, pinturas, tubos fluorescentes, tubos de televisión, baterías, industria de autos, aviones, y puede presentarse naturalmente en el petróleo crudo, gasolina y en fertilizantes inorgánicos tales como fertilizantes fosfatados y lodos de aguas negras usados en tierras agrícolas. Los efluentes de minas de zinc y los vertimientos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

municipales también son fuentes importantes de contaminación (Campos, 1987; Zweig et al., 1999).

El cadmio es un metal pesado que reacciona con grupos biológicos activos (carbosil, fenol, sulfhidril y otros). Larsson *et al*. (1981) señalan que el cadmio causa variados efectos subletales en peces teleósteos, como fracturas y deformidad vertebral, daños testiculares, desarrollo defectuoso de óvulos, reducción del consumo de oxígeno por los tejidos branquiales, cambios patológicos en los tejidos renal e intestinal, efectos hematológicos y disturbios en el metabolismo de carbohidratos. Muchos de los efectos tóxicos en humanos (lesiones en huesos y lesiones renales, anemia e hiperglicemia) son muy parecidos a los efectos del cadmio en otros mamíferos (Zweig et al. 1999).

2.3 HIERRO

El hierro, metal más usado por el hombre históricamente, es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, siendo su forma mineral más común la hematita, cuya fórmula química es Fe_2O_3 (CRC Handbook of Chemistry and Physics, 78th edition).

El hierro presenta tres estados de oxidación: 0, +2 y +3. Es uno de los elementos más importantes en relación a los gradientes redox verticales que se manifiestan en los cuerpos de agua dulce como producto de una continua transformación de hierro (+2) a hierro (+3) y viceversa. El hierro (+2) es el estado de oxidación predominante en el estrato reductor de la columna de agua conformada por los sedimentos y es oxidado a hierro (+3) al ingresar en forma disuelta en la porción oxigenada de dicha columna. Ello da lugar a la formación de hidróxidos de baja solubilidad que se precipitan en los sedimentos, donde por reducción se genera el hierro (+2), que se incorpora a la fase acuosa reiniciándose el ciclo de transformaciones (De Vitre et al., 1994).

La presencia del hierro es esencial para la mayoría de los organismos, en los cuales forma parte de varias enzimas y proteínas. Corresponde destacar su rol fundamental en el transporte de oxígeno en los vertebrados y algunos grupos de invertebrados, ya que forma parte de la hemoglobina.

El hierro desempeña un papel muy importante en las aguas naturales, especialmente en lagos, como un modulador de nutrientes y otras sustancias tales como fósforo y metales traza, alterando su biodisponibilidad (De Vitre et al., 1994).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

La concentración basal media de hierro en aguas dulces es menor que 30 µg/l (Förstner and Wittmann, 1983); sin embargo, la actividad del hombre puede alterar significativamente tal concentración.

El hierro es esencial para los organismos acuáticos, siendo incorporado por ellos a través de proteínas de membrana específicas, exhibiendo tal proceso dependencia de la temperatura (Roesijadi and Robinson, 1994). Sin embargo, al igual que lo que ocurre con otros elementos esenciales, si su concentración en el medio supera un cierto umbral se convierte en una sustancia tóxica para los organismos acuáticos.

Si bien no existe gran cantidad de información relativa a toxicidad aguda del hierro sobre organismos acuáticos, los datos disponibles abarcan una importante variedad de especies. Sin embargo, muchos de ellos no son utilizados para la elaboración del nivel guía por no reunir las condiciones especificadas en la metodología correspondiente a protección de la biota acuática. De acuerdo a los valores seleccionados para invertebrados el isópodo, *Asellus aquaticus,* se observan concentraciones letales (CL50) que llegan hasta 124 mg/l (Furmanska, 1979), siendo el organismo más resistente. El crustáceo *Daphnia magna*, para el que se observa una CL50 de 5,2 mg/l (Dowden and Bennett, 1965) siendo la especie más sensible.

En cuanto a vertebrados, la especie más sensible es *Morone saxatilis,* taxón que presenta una CL50 igual a 4 mg/l (Hughes, 1973), mientras que la especie más resistente es *Poecilia reticulata,* para la que se reporta una CL50 igual a 117,2 mg/l (Furmanska, 1979).

Los trabajos sobre toxicidad crónica del hierro son escasos, considerándose para el presente desarrollo sólo dos de ellos, que en conjunto proporcionan datos referentes a tres especies de invertebrados. Dichos datos identifican a *Daphnia magna* como especie más sensible y a *Orconectes limosus* como especie más resistente. También es escasa la información relativa a efectos tóxicos del hierro sobre plantas acuáticas y algas. Al respecto, se considera solamente un dato acerca de la inhibición del crecimiento en una especie de alga unicelular, *Chlorella vulgaris,* consistente en una concentración a la cual no se observa efecto (NOEC) igual a 3 mg/l (Den Dooren de Jong, 1965).

2.4 PLOMO

El plomo está catalogado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA) como uno de los 129 contaminantes prioritarios. Todos los efectos del plomo sobre los organismos son adversos, incluyendo los relacionados con

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sobrevivencia crecimiento, aprendizaje, reproducción, desarrollo y metabólismo (Irwin, *et al*. 1997, Harte, *et al*. 1995).

El plomo es un metal suave, de color gris blancuzco. No tiene sabor ni olor característico. Es poco soluble en agua y es transportado principalmente en la atmósfera (Harte, *et al*., 1995).

El plomo es el metal tóxico más difundido, y es detectable prácticamente en todas las fases del ambiente. La principal vía de exposición para la población son los alimentos y las fuentes que producen exposición excesiva y efectos tóxicos suelen ser ambientales. Estas fuentes incluyen pintura para interiores que contienen plomo y que se encuentra en viviendas antiguas; plomo en polvo que proviene de fuentes ambientales, en agua para beber contaminada y en el aire por combustión de emisiones industriales, alfarería barnizada con plomo y con menor frecuencia polvo de plomo llevado al hogar por trabajadores industriales en ropa y calzado (Klaassen y Watkins, 2001).

Es un metal no esencial para los organismos, ya que no se conocen daños provocados por la deficiencia de plomo. Un exceso de plomo causa disfunción renal, anemia, daño neurológico (produce alteraciones sobre las funciones sensoriales, motoras y conductuales). El plomo interfiere con los mecanismos sinápticos de liberación de transmisor. Se sugiere que el plomo puede sustituir al calcio y posiblemente al zinc en fenómenos dependientes del ión calcio en la sinapsis, y es la cusa del deterioro de diversos sistemas de neurotransmisión química (colinérgico, noradrenérgico, GABAérgico y dopaminérgico) (Hodgson y Levi, 1997; Klaassen y Watkins, 2001).

El plomo puede reemplazar al calcio en reacciones dependientes de calmodulina, así como inhibir la Na^+, K^+-ATPasa unida a membrana, e interferir con la liberación mitocondrial de calcio y con el metabolismo de energía. Estos efectos son en potencia reversibles si es posible eliminar al plomo de los sitios activos (Klaassen y Watkins, 2001).

Cuando los niveles de calcio son normales o altos, el plomo es almacenado en el tejido óseo. Sin embargo cuando existen bajos niveles de ión calcio, el plomo vuelve a entrar en la circulación y puede causar daños en hígado y riñones (Klaassen y Watkins, 2001). El plomo también es carcinógeno y tiene efectos nocivos sobre la reproducción (Hodgson y Levi, 1997).

El plomo es el metal pesado más tóxico para los organismos acuáticos, especialmente peces. Como el arsénico, el plomo puede causar una excesiva formación de moco, lo cual puede cubrir las branquias e impedir la respiración. El plomo tiene

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

efectos sinérgicos con cadmio, mercurio, cobre, zinc, esto ha sido estudiado para la biota acuática. En invertebrados, los envenenamientos subletales con plomo están caracterizados por problemas neurológicos, disfunción renal, inhibición enzimática y anemia. Elevadas concentraciones de plomo en agua son particularmente tóxicas a muchas especies de alga. La CL_{50} (48h) del plomo en algunos invertebrados como *Daphnia magna* es de 0.45 mg/L, para el rotífero *Brachionus calyciflorus* es > 4.0 mg/L, para *Daphnia pulex* es de 5.1 mg/L y la CL_{50} a 96h para la trucha arco iris es de 4.61 mg/L (Irwin, *et al*. 1997).

2.5 ZINC

El zinc es un elemento esencial en cantidades traza para plantas y animales. En los mamíferos, éste juega un rol vital en la biosíntesis de ácido nucleíco, y de esta forma, está envuelto en procesos de cicatrización del tejido del cuerpo. Otros procesos fisiológicos que incluyen metabolismo hormonal, respuesta inmunológica y estabilización de ribosoma y membranas requieren zinc.

El zinc metálico puro es raramente encontrado en la naturaleza, por que el elemento es altamente reactivo y forma una variedad de sales. La mayoría de sus compuestos son solubles al agua, aunque el metal por si mismo no lo es. Debido a su alta reactividad, el zinc es comúnmente usado como revestimiento del acero (galvanizado). El acero es de esta forma protegido de agentes corrosivos que atacan preferencialmente la cubierta de zinc. También, por muchos siglos, el zinc ha sido aleado con cobre para hacer bronce. El mineral más común de zinc es la esfalerita (ZnS).

El zinc en aguas naturales ocurre en forma de partículas disueltas o suspendidas. Se cree que solo la fracción disuelta es tóxica para los peces. El zinc disuelto asume diferentes formas químicas en varios complejos orgánicos e inorgánicos. El zinc se presenta como Zn^{+2} en aguas ácidas y como $ZnOH^{+}$ en aguas blandas. De acuerdo a algunos estudios el zinc se presenta como un tóxico “ión aquo” $(Zn(H_2O)_6)^{2+}$, casi exclusivamente en aguadulce. El agua blanda por otra parte incrementa la toxicidad del zinc en peces (EPA, 1992). La mayor parte del zinc que ingresa al medio ambiente acuático es eventualmente depositado en los sedimentos.

La fuente artificial más importante de zinc en el medio ambiente comprende electro - galvanizadores, fundiciones y procesos mineros, drenaje de mina, aguas residuales

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

domésticas e industriales, escorrentía superficial de caminos, corrosión de aleaciones de zinc y superficies galvanizadas y erosión de suelos agrícolas (Eisler, 1993)

El zinc es un elemento esencial para el crecimiento de las plantas pero se ha observado toxicidad de metal en el algodón, en la soja (Lee and Craddock 1969) y en el maní expuestos a zinc en rocíos de pesticidas.

Varios factores del suelo, de la planta y del medio ambiente influencian la disponibilidad y toxicidad de zinc para las plantas. El zinc es más soluble en suelos ácidos. La solubilidad del zinc, desde el punto de vista de su disponibilidad, disminuye a medida que el pH del suelo incrementa de pH 4 a pH 7. Parker et al.(1990) encontraron que un incremento en el zinc del suelo desde 1 a 10 mg/Kg incrementó las hojas de maní por 202 mg/Kg a un pH del suelo de 4,6 y por sólo 9 mg/Kg a pH 6,6. En tratamientos de lodos de aguas residuales, Williams (1980) observó una reducción en la fitotoxicidad del metal cuando el pH del suelo fue elevado desde 6,2 a 7,0. A pH 7,0, más de 4 veces la cantidad de zinc y níquel fue requerida para producir la misma reducción en rendimiento de cebollas en pH 6,2. En estudios más recientes, Smith (1994) notó que la concentración de todos los elementos (níquel, cobre y zinc) en centeno, crecidos en dos suelos tratados con aguas residuales, disminuyó como una función lineal simple del pH del suelo que incrementa desde 4,2 a 7,0. Basado en estos resultados, Smith propuso concentraciones máxima permisibles de zinc en el suelo como una función del pH, para protegerlo de efectos producidos por reacciones fitotóxicas.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

3. JUSTIFICACIÓN

Frente al desafío de evaluar los potenciales efectos adversos sobre la biota y la salud humana, de los numerosos agentes físico-químicos y sus combinaciones, como ocurre en el medio natural, se ha perfeccionado el uso de baterías de bioensayos que en forma rápida y económica permiten obtener información relevante para la toma de decisiones orientadas a la protección de los ecosistemas incluyendo a los seres humanos. En este contexto existe consenso entre los expertos en relación a que los bioensayos de toxicidad ofrecen mayor información y representatividad de efectos globales en el ecosistema son los realizados con organismos en estadios tempranos de desarrollo, debido a la alta susceptibilidad que presentan.

Se proponen cinco metales tóxicos para su evaluación que han sido ampliamente usados por la industria en Aguascalientes (IMTA, 1997), en México y en el mundo. Los cinco tóxicos propuestos han sido además muy citados en la literatura por sus efectos diversos a todo tipo de organismos vivos, incluyendo especies acuáticas. Así mismo, los cinco metales propuestos (aluminio, cadmio, hierro, plomo, y zinc), para los estudios de incorporación de metales, ó la realización de pruebas de toxicidad fueron seleccionados dado su importancia nacional (forman parte de las sustancias listadas en la Norma Oficial Mexicana con niveles permisibles para agua de consumo humano NOM-127-SSA1-1994), así como por su presencia e importancia en el estado de Aguascalientes en donde se han encontrando concentraciones de 56, 6, 41, 0.12, 22 mg/l respectivamente en el cauce del Rio San Pedro (Ramírez-López, et al., 2007).

Los resultados que se obtengan en este estudio servirán para evaluar los efectos tóxicos en organismos de diferentes niveles tróficos y tener una percepción de lo que ocurre en un sistema natural. Cada prueba responde de una manera única que enfatiza la sensibilidad intrínseca de la prueba, las diferencias de respuestas con las especies, las rutas de exposición y el comportamiento de los tóxicos individuales.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

4. HIPÓTESIS

Se espera que los organismos de niveles tróficos inferiores sean mas sensibles a la toxicidad de los metales.

5. OBJETIVO GENERAL

Emplear una batería de organismos formada de tres niveles tróficos diferentes para desarrollar pruebas toxicológicas agudas y crónicas que midan los efectos de tóxicos del aluminio, cadmio, hierro, plomo y zinc.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Se usaran dos especies de cladóceros *Daphnia magna* y *D. pulex*, dos especies de rotíferos (uno fitófago y un depredador) *Brachionus calyciflorus* y *Asplanchna brightwelii,* y dos especies de algas verdes *Selenastrum capricornotum* y *Nannochloropsis oculata* para el desarrollo de las pruebas toxicológicas.
b) Realizar pruebas agudas con cada organismo para cada metal obteniendo valores de CL50, NOEC y LOEC.
c) Realizar pruebas crónicas de la tasa intrínseca de crecimiento en rotíferos y cladóceros, e inhibición de crecimiento en algas por medio de fluorescencia.
d) Determinar la sensibilidad de los organismos para cada metal.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

7. METODOLOGÍA

7.1Pruebas de toxicidad aguda

7.2 Cladóceros

Los cultivos de cladóceros se mantienen en agua reconstituida y se alimentan con dos especies de algas verdes, *Selenastrum capricornutum* (Colección U. de Texas 1648) y *Ankystrodesmus falcatus* (Colección U. de Texas 1648) en una proporción 80:20 respectivamente.

La prueba se realiza siguiendo las recomendaciones de la Norma Mexicana para la evaluación de toxicidad aguda con *Daphnia magna* (NMX-AA-087-1995-SCFI). La prueba consiste en lo siguiente:

Inicia con la separación de hembras que presenten huevos, al día siguiente se colectan los neonatos de menos de 24 horas que son colocados en un frasco con agua reconstituida, esto se hace al menos una hora antes de la prueba.

En frascos con un volumen de 150 ml se agregan 100 ml de agua reconstituida (control negativo), y además cinco concentraciones del tóxico, posteriormente se colocan 10 neonatos en cada frasco, tomando en cuenta que 3 frascos representan una réplica y en total se realizan 3 réplicas.

Los frascos ya con neonatos son incubados a 20°C durante 48 horas y un fotoperiodo de 16:8, l:o, y en ausencia de alimento. Al término de las 48 horas se revisan los frascos con la ayuda de un transiluminador y se cuentan el número de organismos muertos o inmóviles. La sobrevivencia en el control, negativo debe ser del 90% o mayor para que la prueba sea aceptada.

Por medio de una ANOVA se analizara el porcentaje de mortalidad y por medio de una prueba de Duncan se hará una comparación entre las medias del control negativo y las diferentes muestras; de esta forma se podrá establecer si existe una diferencia significativa y determinar que concentraciones representan los valores LOEC y NOEC.

7.3 Rotíferos

La prueba inicia separando huevos partenogénicos 24 horas antes de las pruebas, estos huevos se incuban a 25°C. Al día siguiente se toman los neonatos de menos de 24 horas y se colocan 10 en cada poza de un volumen total de 3 ml de una placa de 24 pozas de poliestireno (Corning). Cada poza tendrá un volumen total de 1 mililitro, se contará con un control negativo de agua reconstituida y cinco replicas con cinco

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

concentraciones del toxico. Se incuban durante 48 horas a 25°C con un fotoperiodo de 16:8, l:o en ausencia de alimento. Al final de la incubación se cuentan el número de organismos muertos o inmóviles con la ayuda de un microscopio estereoscópico. El análisis estadístico se realiza de la misma forma que en la prueba de toxicidad aguda para *D. magna.*

7.4 Algas

Ensayo de toxicidad aguda con *Selenastrum capricornutum* y *Nannochloropsis oculata*

La preparación del inóculo que será utilizado en las pruebas proviene de un cultivo en fase exponencial. La densidad del cultivo será determinada con ayuda de una celda de conteo o cámara de Neubauer. Después de obtener la densidad del alga esta se coloca en una placa de 96 pozas para obtener una concentración de $1x10^6$ celulas/ml en un volumen total de 300 microlitros.

La fluorescencia se midió con un fluorómetro de placa (Modulus™ II Microplate, Turner Biosystems) con rango máximo de excitación de 490 nm y longitud de emisión de 510-571 nm.

Se tendrá un control negativo y cinco concentraciones diferentes para cada metal, con cinco replicas. La prueba inicia la medir las unidades de fluorescencia en un fluorómetro de placa para posteriormente incubarlas a 20°C y un fotoperiodo de 16:8, l:o, después de 24 h se procede a medir nuevamente la fluorescencia.

8. PRUEBAS CRÓNICAS

8.1 Prueba de toxicidad por exposición crónica que mide la inhibición de la tasa intrínseca de crecimiento (*r*)

La prueba inicia colocando 5 organismos de *B. calicyflorus* en un poza de poliestireno, con un control negativo de medio de cultivo y cinco concentraciones del toxico, se agrega el alimento en una concentración de $1x10^6$ células/ml del alga *Nannochloropsis oculata*, posteriormente se colocan en la cámara bioclimática en un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 h y a una temperatura de 25 $\pm$ 2 °C por cinco días.

Al término de los cinco días de incubación se cuenta el número de organismos en cada poza y así obtener el valor de *r* usando la siguiente fórmula:

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

$$r = \frac{\ln Nt - \ln No}{t}$$

Donde:

Nt = Número de rotíferos vivos en la poza después de 5 días

No =Número inicial de rotíferos en la poza

ln = logaritmo natural

t = tiempo (5 días)

En el caso de *A. brightwelii* se colocan dos organismos en frascos de 15ml en un volumen total de 5ml y la alimentación consiste en organismos de *B. calicyflorus* con una densidad 0.06 individuos por litro.

8.2 Prueba de 21 días con *Daphnia magna* y *Daphnia pulex.*

El procedimiento es igual que la prueba aguda, la diferencia consiste en que los organismos serán expuestos al toxico durante 21 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *S. capricornotum*. El alimento se proporciono cada día durante toda la prueba. Al final de la prueba se contabilizaron el total de organismos vivos y se calculo la tasa intrínseca de crecimiento.

8.3 Prueba de inhibición del crecimiento en las algas *Selenastrum capricornotum* y *Nannochloropsis oculata*.

La metodología es similar a la usada en las pruebas agudas a diferencia que la duración de la prueba es de 96h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

9. RESULTADOS

9.1 PRUEBAS DE TOXICIDAD AGUDA

Cuadro 1. Valores de toxicidad aguda con *A. brightwelii* con cinco metales.

.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.146	0.1	0.25	0.70	44.29	0.076 – 0.280
Al	0.174	0.1	0.5	0.76	43.68	0.089 – 0.338
Zn	0.222	0.5	1.0	0.68	38.96	0.099 – 0.498
Pb	0.318	<0.5	0.5	0.70	39.46	0.144 – 0.706
Fe	0.358	0.5	1.0	0.66	44.89	0.159 – 0.810

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

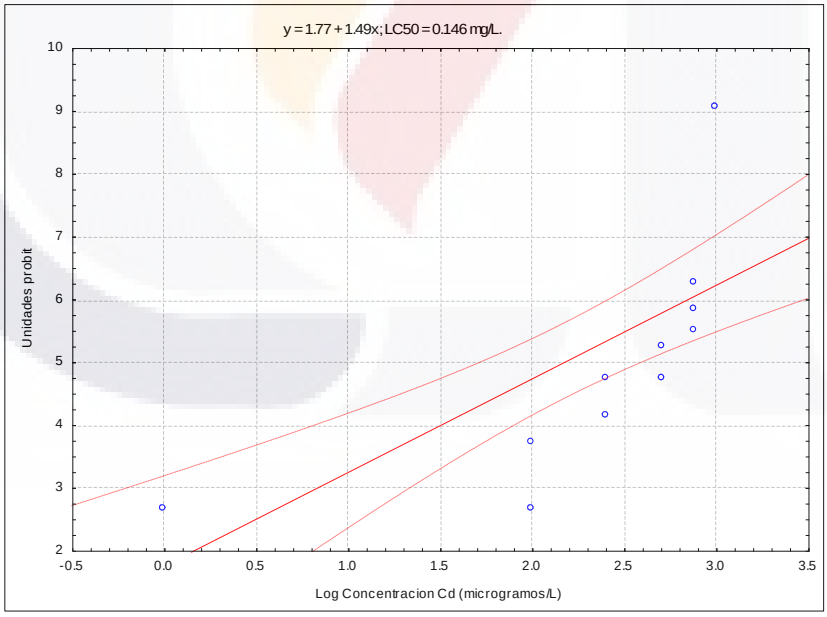

Figura 1.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

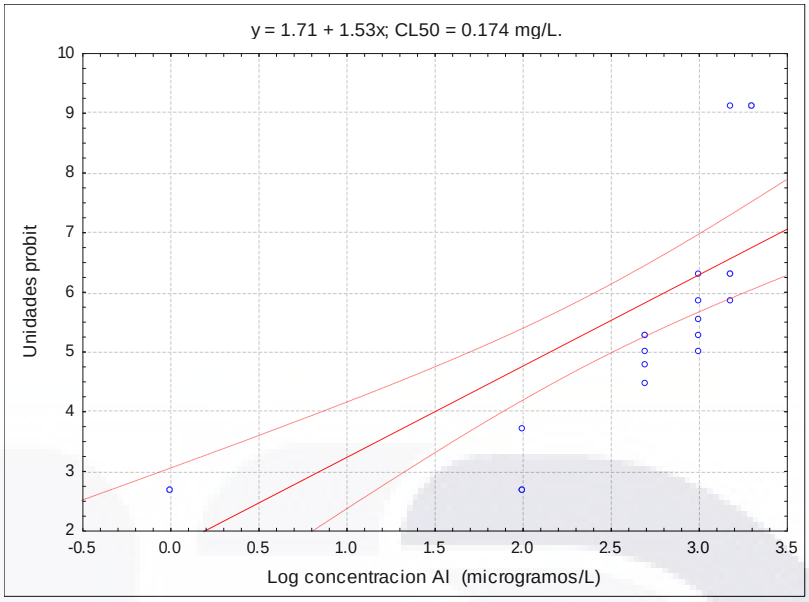

Figura 2.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

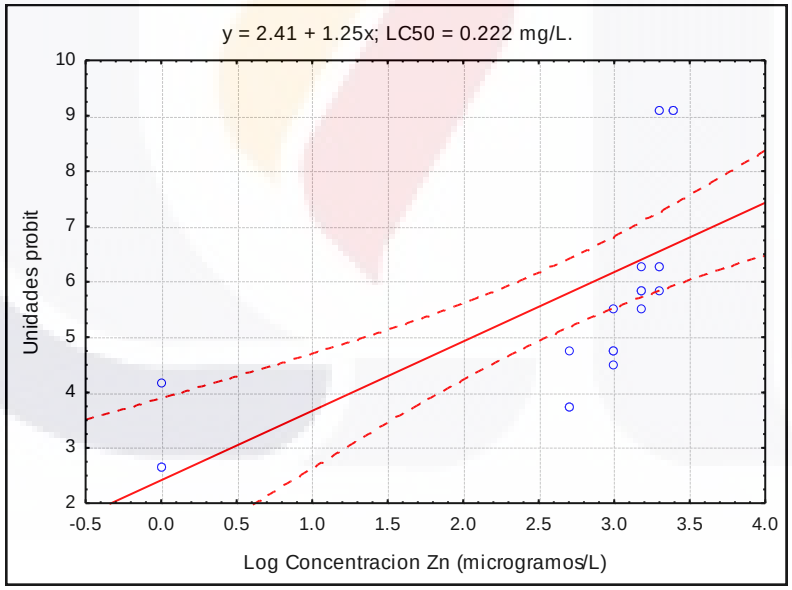

Figura 3.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

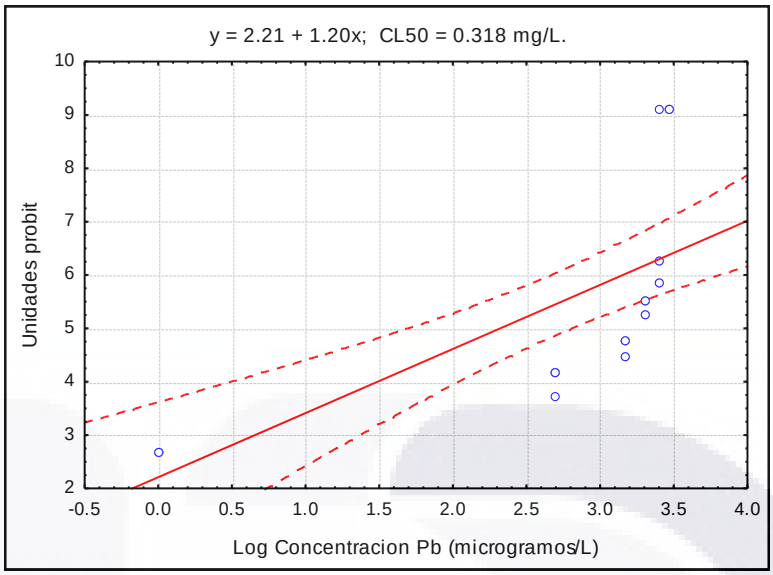

Figura 4.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

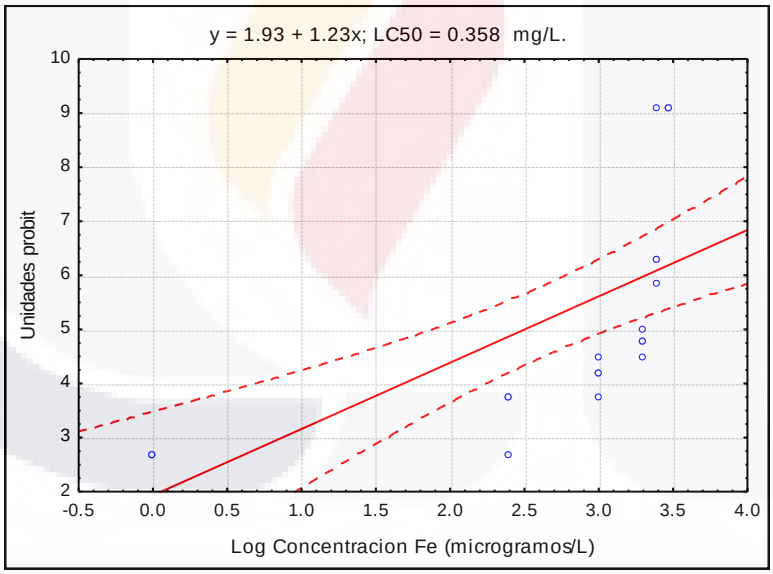

Figura 5.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *A. brightwelii* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 2. Valores de toxicidad aguda con *B. calyciflorus* con cinco metales.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.094	0.10	0.25	0.70	52.68	0.051 - 0.174
Al	0.105	0.01	0.05	0.79	46.25	0.056 – 0.197
Pb	0.248	0.25	0.75	0.67	81.45	0.117 – 0.530
Fe	0.232	0.10	1.0	0.77	42.89	0.114 – 0.471
Zn	0.324	0.05	0.5	0.71	45.96	0.149 – 0.702

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

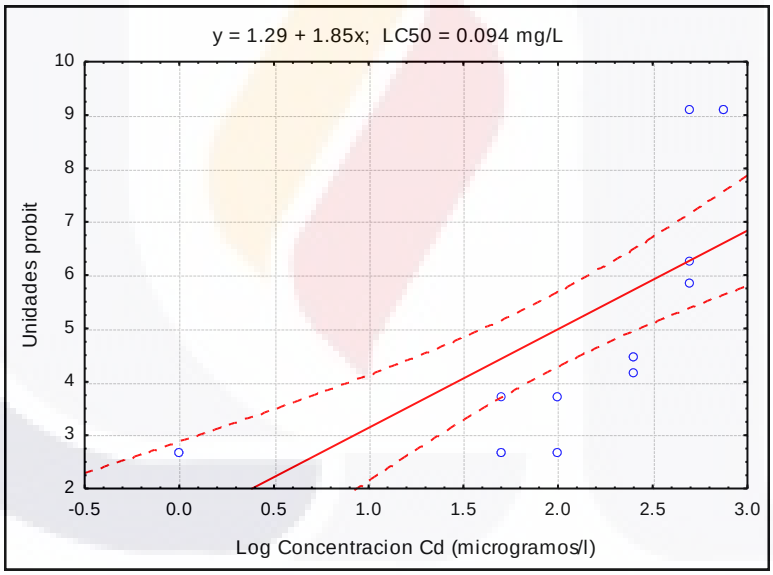

Figura 6.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

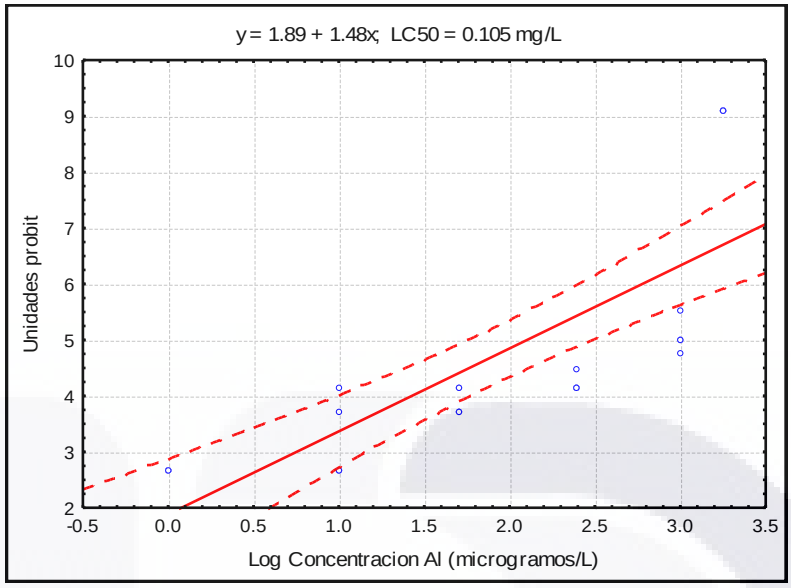

Figura 7.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

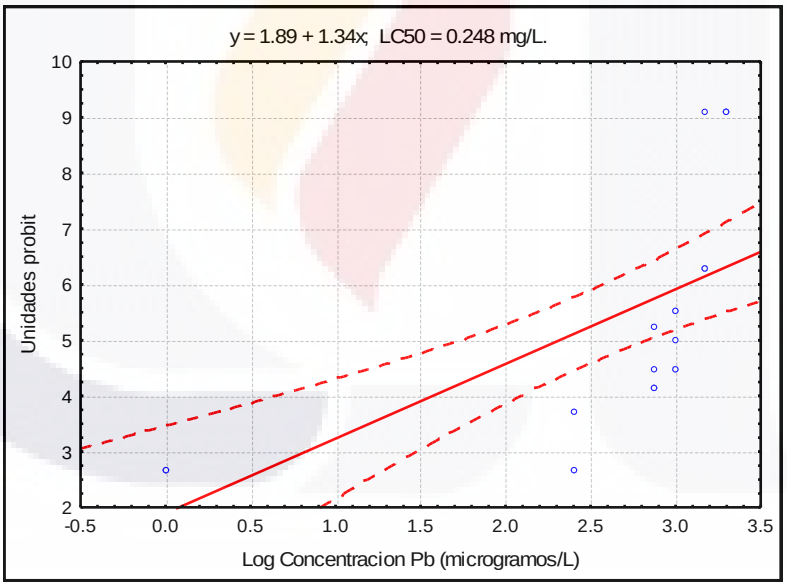

Figura 8.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

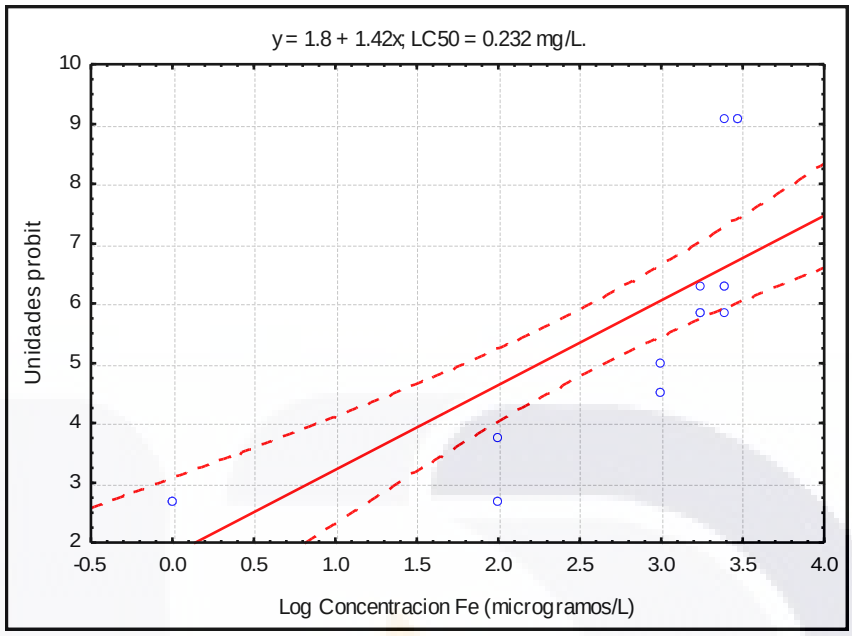

Figura 9.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

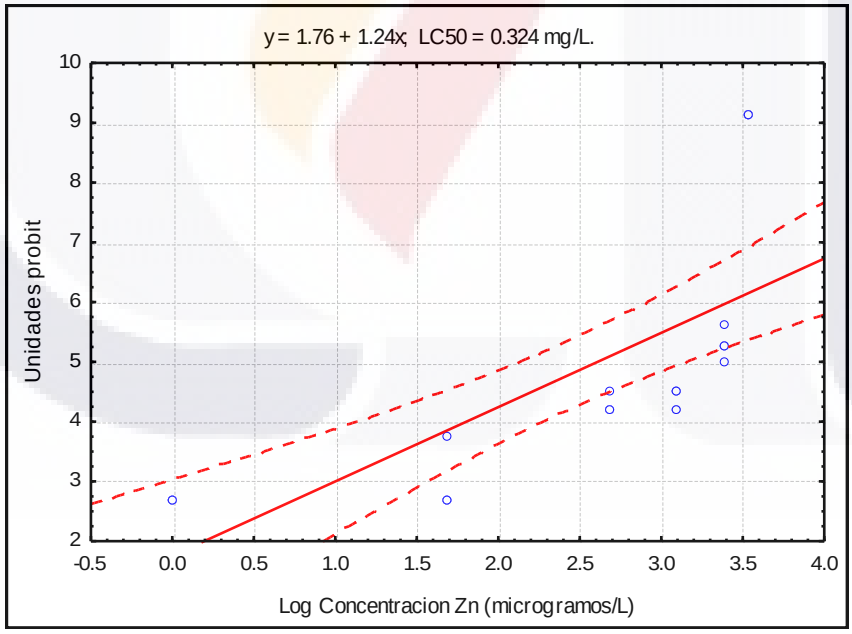

Figura 10.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *B. calyciflorus* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 3. Valores de toxicidad aguda con *D. magna* con cinco metales.
.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.151	0.1	0.18	0.60	6.6	0.1122- 0.2041
Zn	0.257	0.05	0.1	0.75	9.33	0.1949-3388
Al	0.260	0.05	0.1	0.75	8.0	0.1985-0.3417
Fe	0.286	0.1	0.25	0.66	3.57	0.2103-0.3890
Pb	0.834	0.25	1.0	0.61	10.84	0.5675-1.2022

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

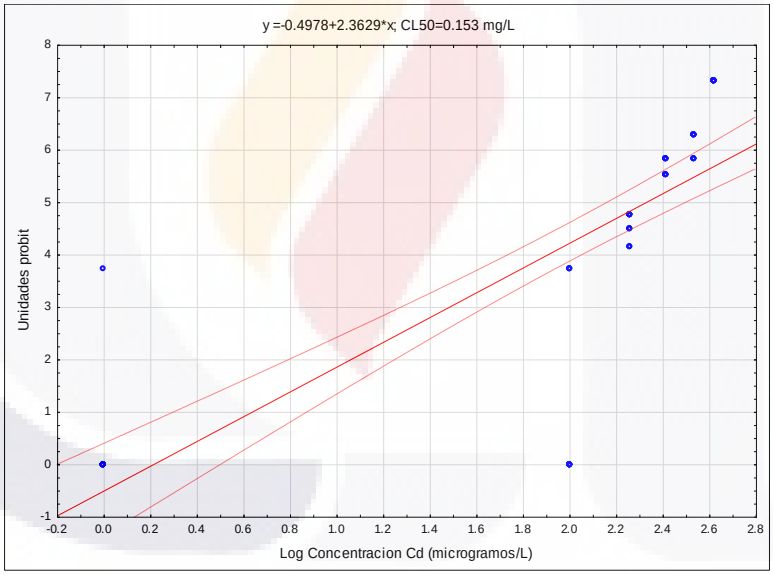

Figura 11.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

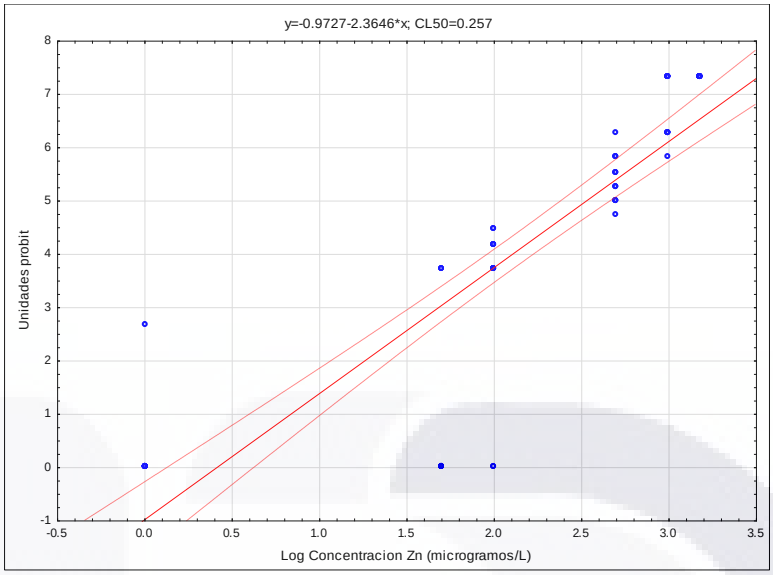

Figura 12.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

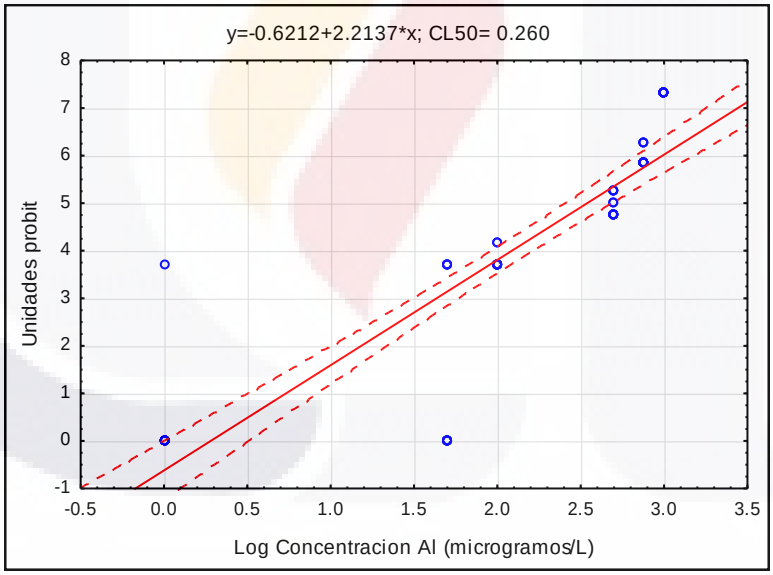

Figura 13.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

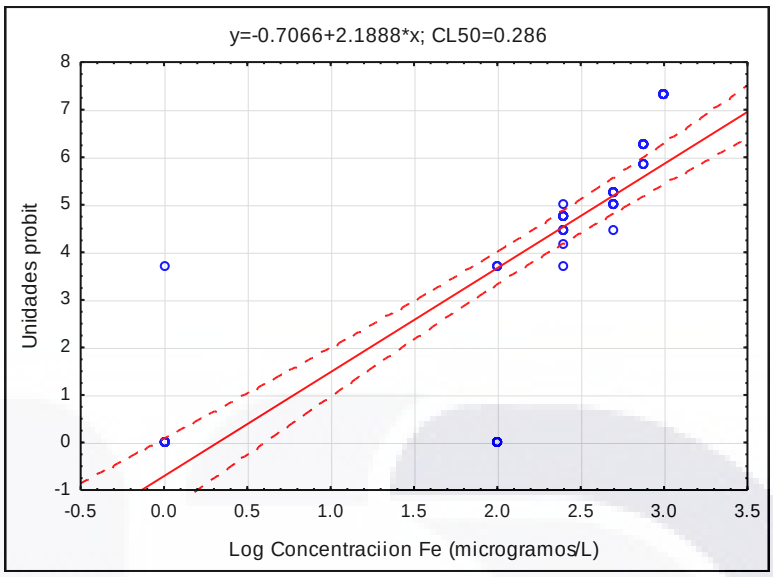

Figura 14.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

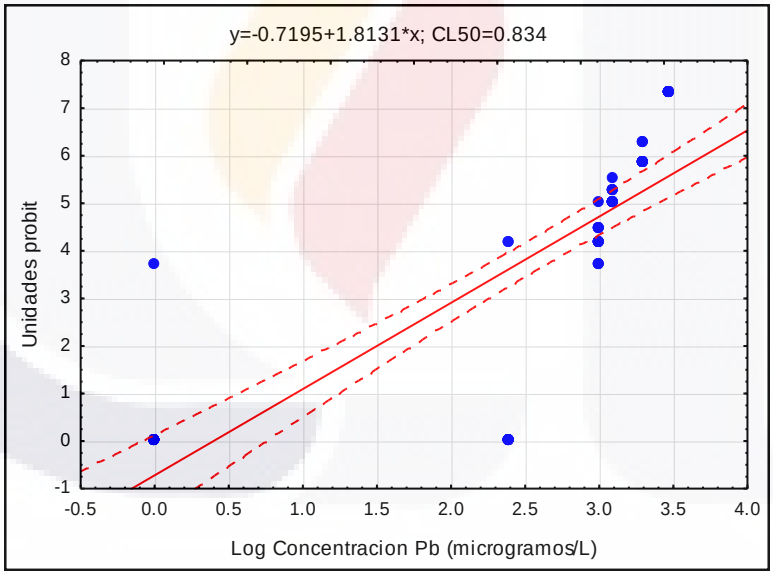

Figura 15.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *D. magna* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 4. Valores de toxicidad aguda con *D. pulex* con cinco metales.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.129	0.01	0.1	0.85	7.75	0.1047-0.15488
Fe	0.613	0.01	0.5	0.87	15.83	0.4786-0.7762
Al	0.794	0.01	1	0.79	7.59	0.6025-1.0232
Zn	0.974	0.05	1	0.80	16.49	0.7177-1.3243
Pb	1.174	0.1	1.5	0.75	13.67	0.8511-1.6595

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

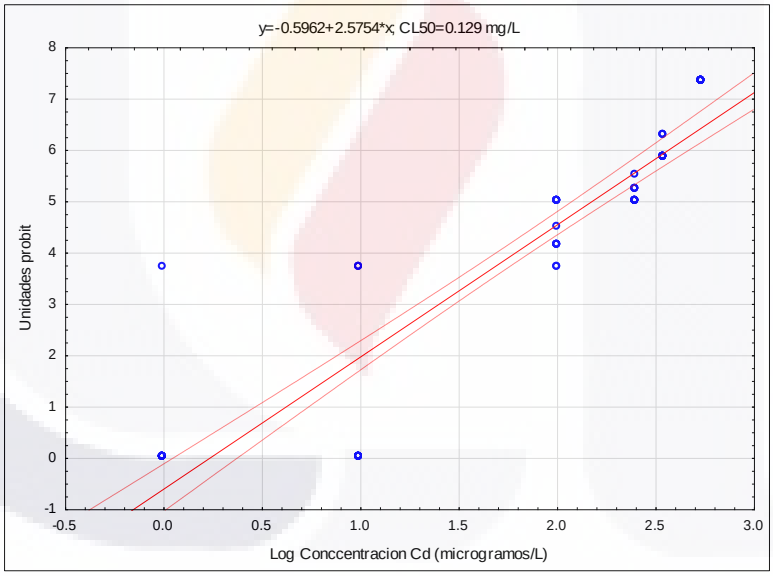

Figura 16.Grafica que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

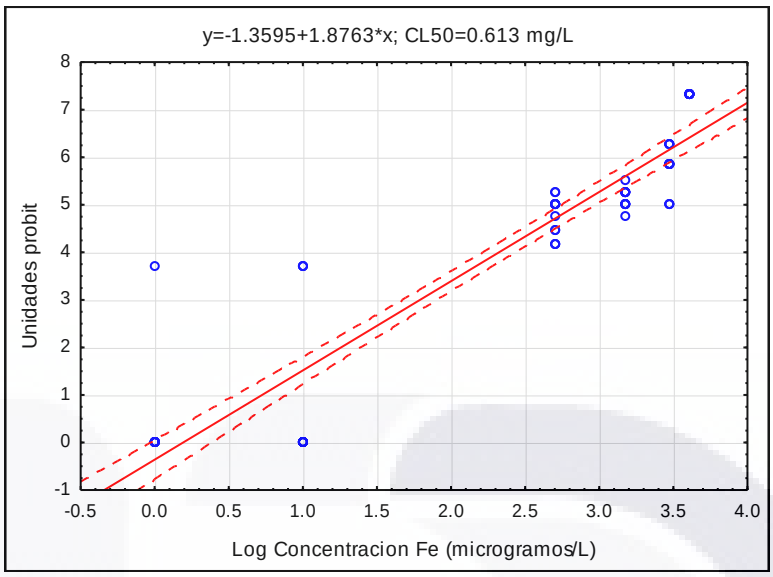

Figura 17.Grafica que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

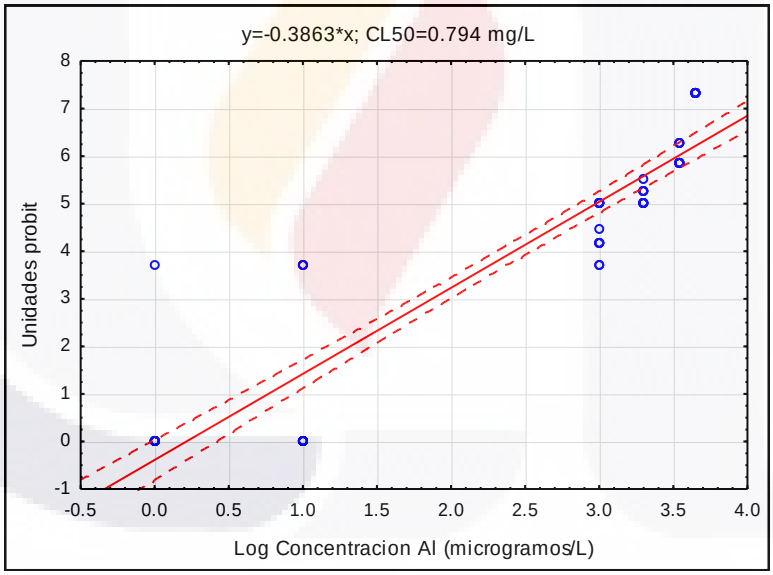

Figura 18.Grafica que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

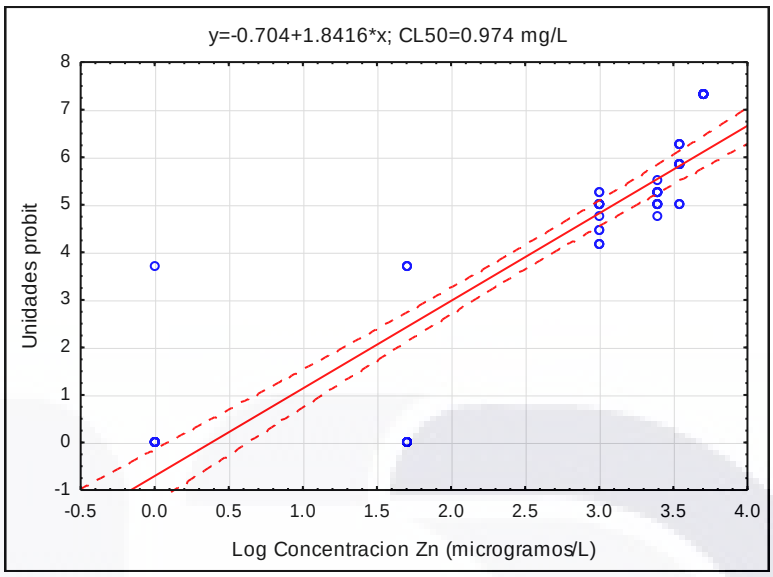

Figura 19.Grafica que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

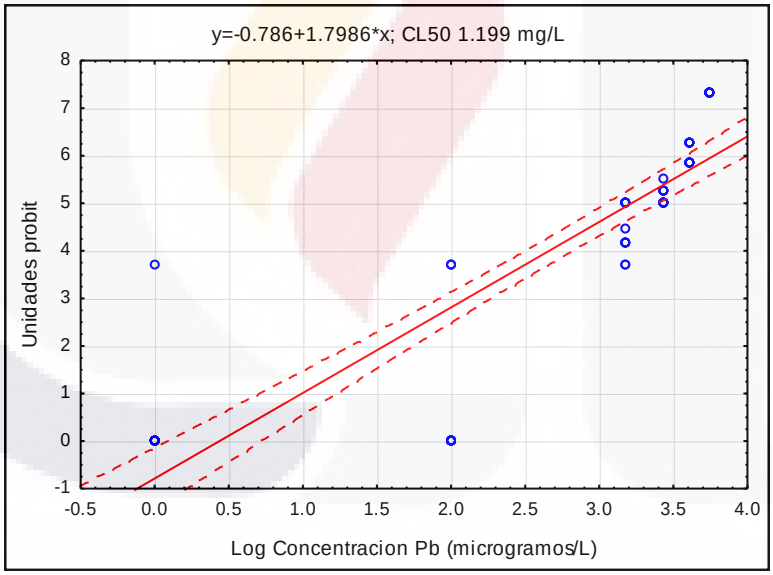

Figura 20.Grafica que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *D. pulex* en un tiempo de 24h en ausencia de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 5. Valores de toxicidad aguda con *N. oculata* con cinco metales.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Zn	3.226	0.3	1	0.76	4.96	0.8496-5.6390
Cd	3.599	1	2.5	0.75	2.4	1.0742-6.1256
Pb	4.447	1	3	0.83	4.48	1.9600-6.9348
Fe	5.708	1.5	3	0.85	4.9	2.9744-8.4433
Al	11.058	5	10	0.90	3.97	7.3665-147508

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

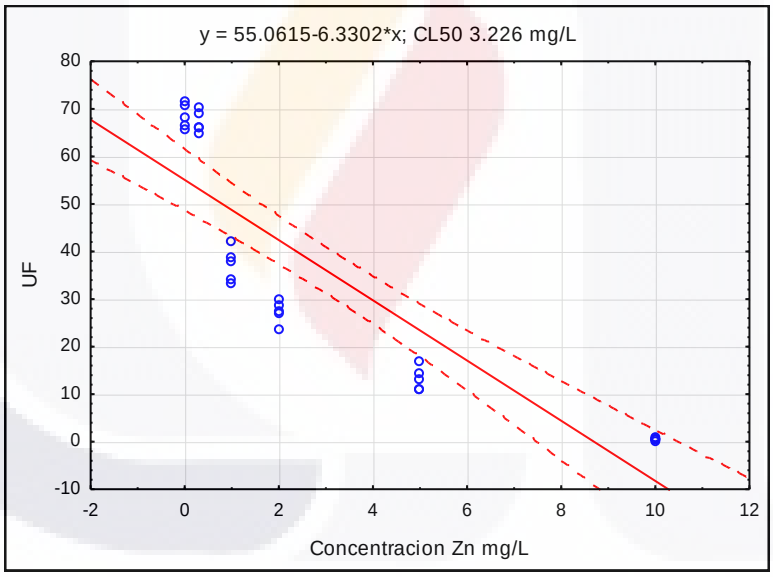

Figura 21.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

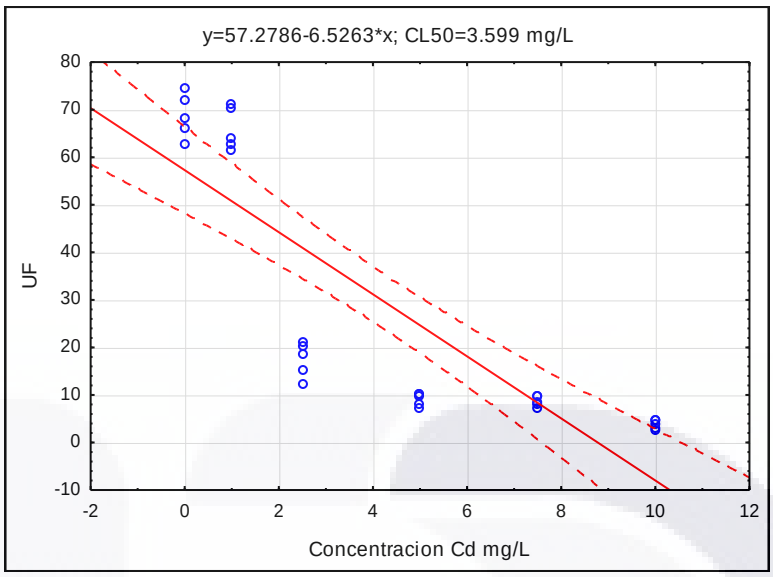

Figura 22.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h.

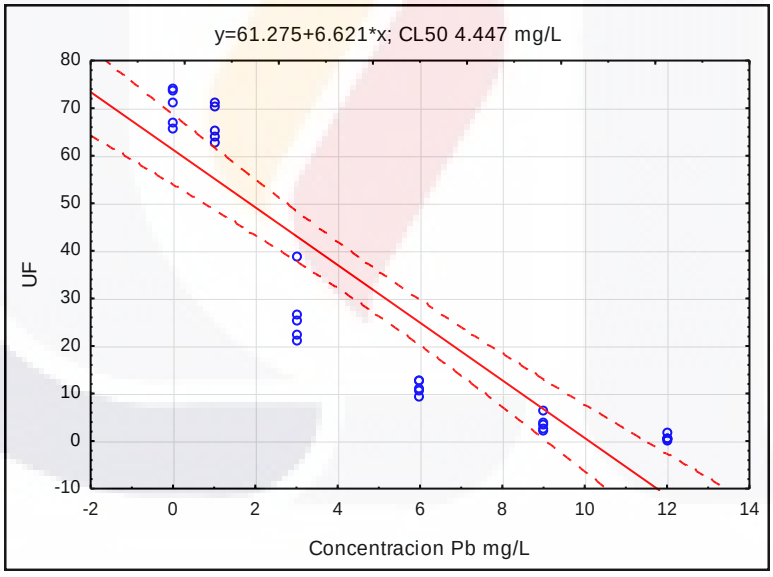

Figura 23.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

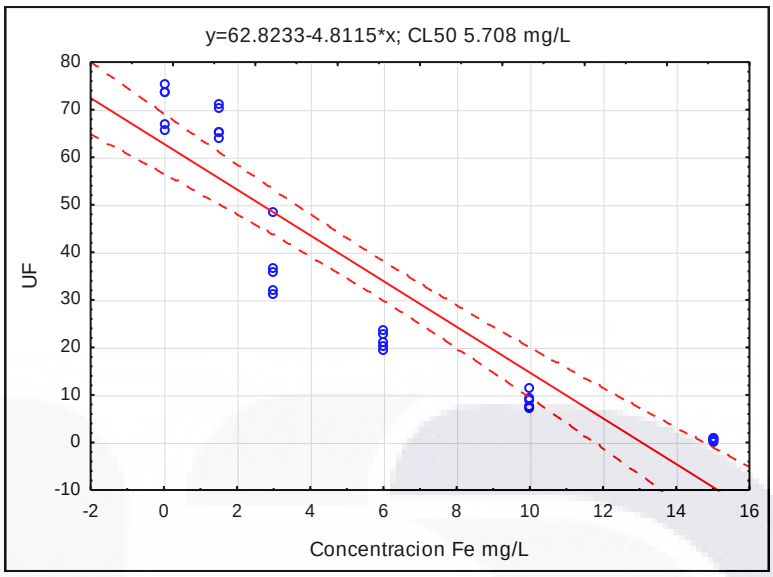

Figura 24.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h.

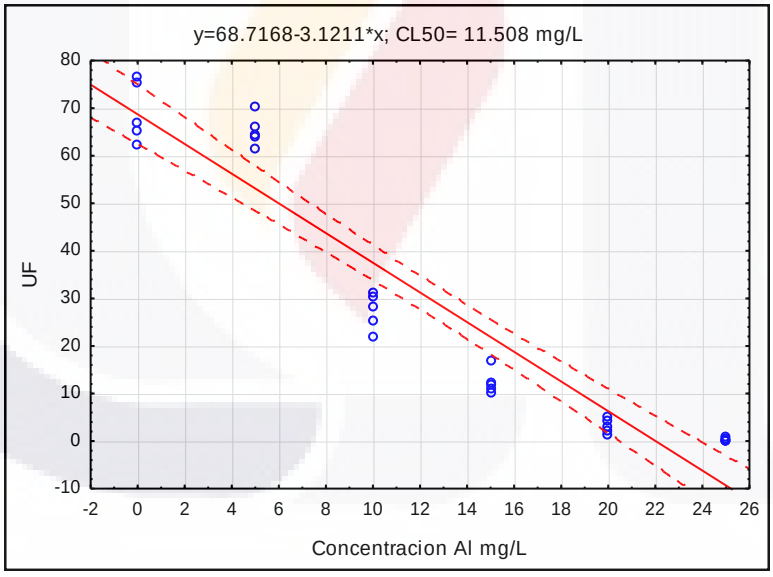

Figura 25.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *N. oculata* en un tiempo de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 6. Valores de toxicidad aguda con *S. capricornotum* con cinco metales.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Zn	0.726	0.05	0.5	0.82	5.21	0.7269-1.1544
Cd	0.987	0.01	0.5	0.83	3.06	0.4979-1.1476
Pb	1.116	0.5	1	0.83	3.6	0.6862-1.5471
Al	2.170	1	2	0.80	1.39	1.2872-3.0722
Fe	6.096	1	3	0.83	1.64	0.2864-8.9065

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

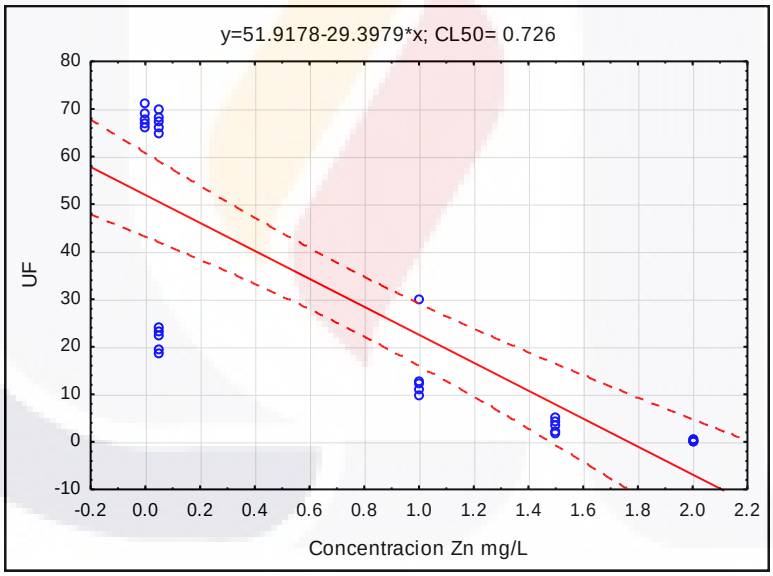

Figura 26.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

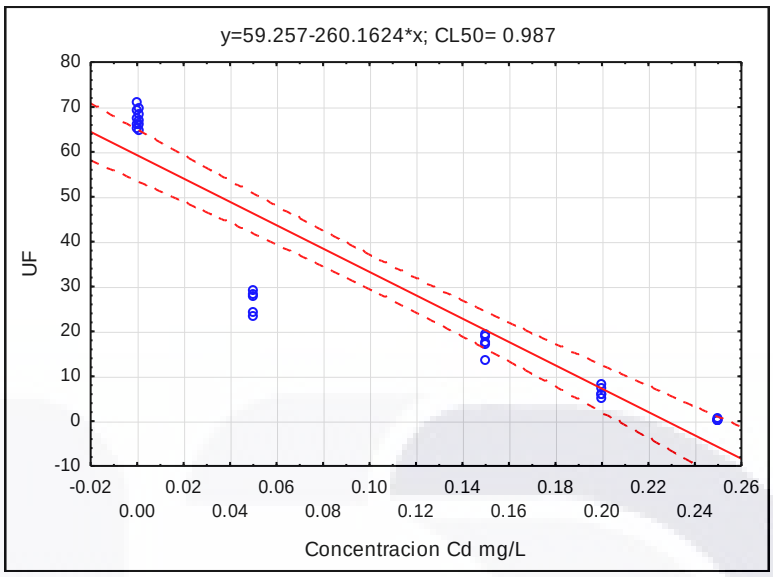

Figura 27.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h.

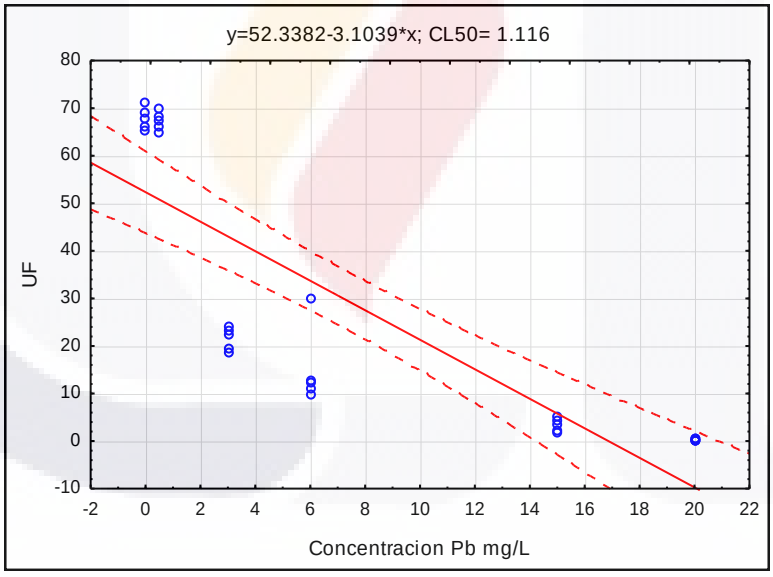

Figura 28.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

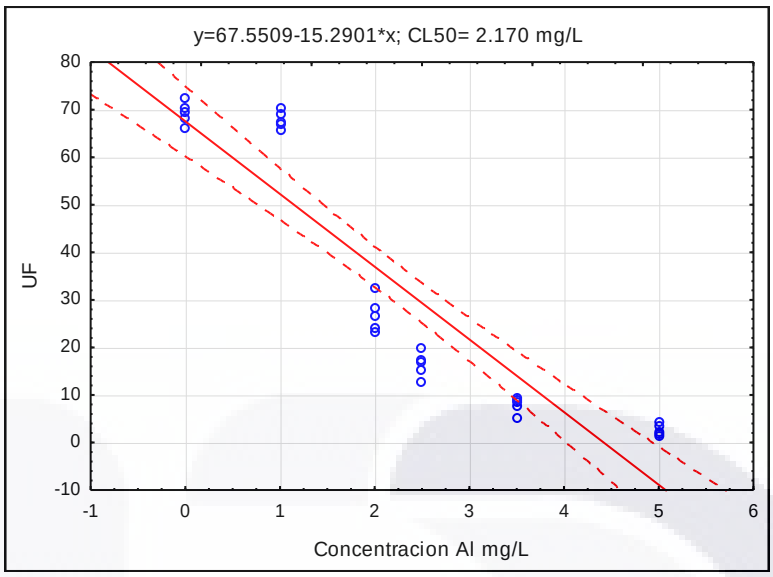

Figura 29.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h.

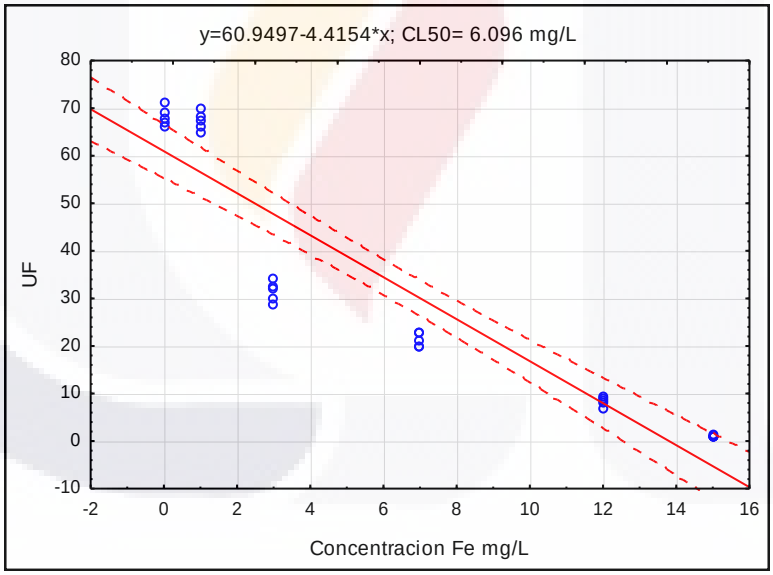

Figura 30.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la sobrevivencia de *S. capricornotum* en un tiempo de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

9.2 PRUEBAS DE TOXICIDAD CRÓNICA

Cuadro 7. Valores de toxicidad crónica con *A. brightwelii* con cinco metales.

Metal	CE50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Fe	0.046	0.0048	0.0096	0.77	12.5	0.0251-0.0668
Cd	0.047	0.0025	0.005	0.70	12.5	0.0150-0.0805
Zn	0.056	0.001	0.005	0.79	8.92	0.0295-0.0843
Pb	0.073	0.0075	0.015	0.86	10	0.0477-0.0986
Al	0.111	0.015	0.045	0.92	11.81	0.0883-0.1350

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

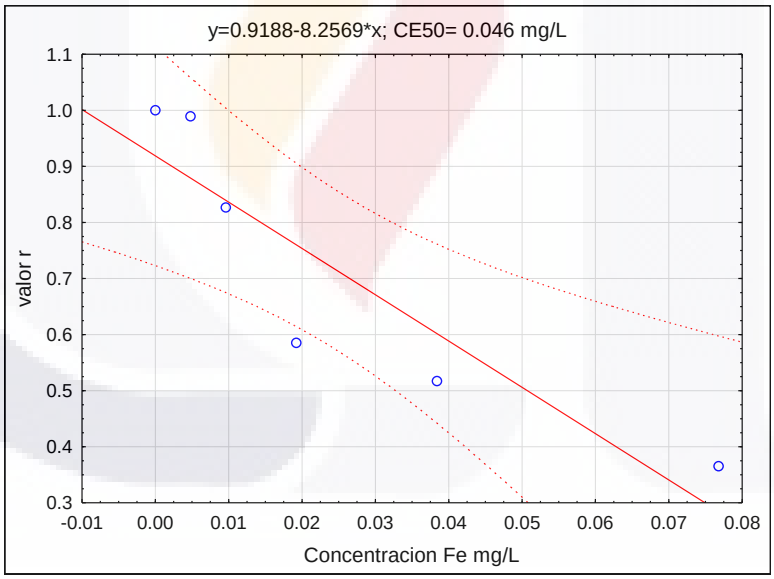

Figura 31.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus.*

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

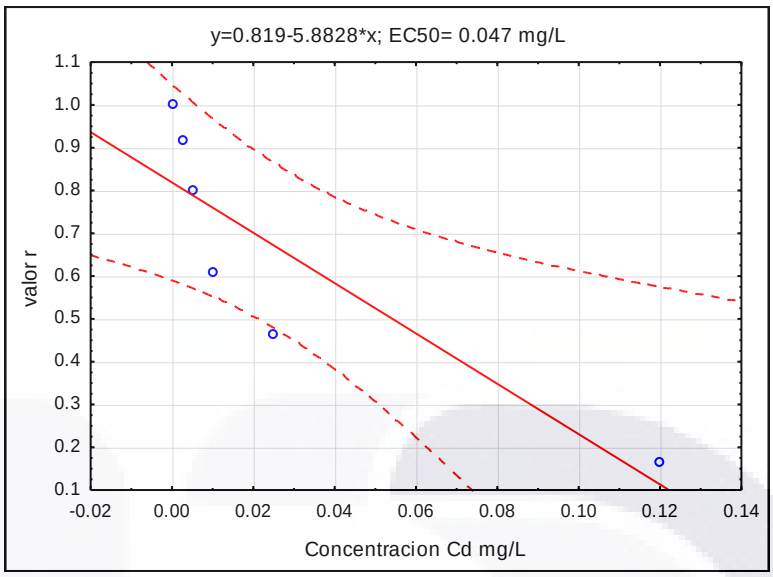

Figura 32.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus.*

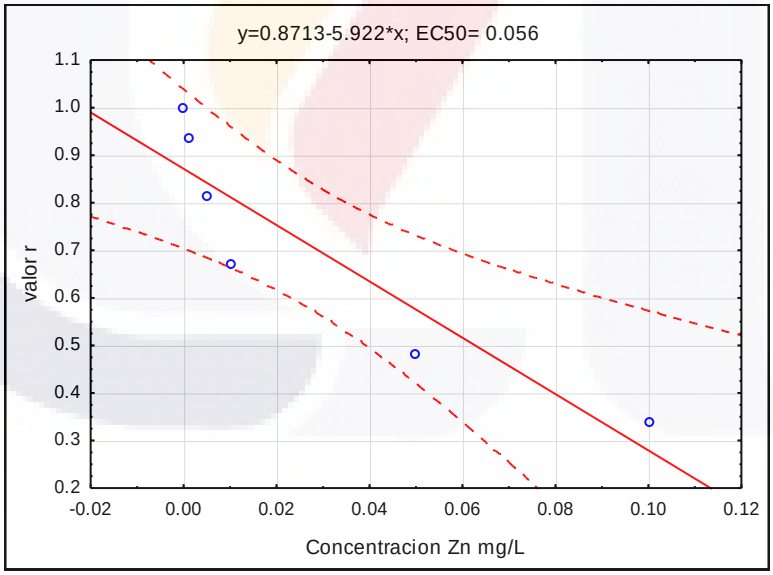

Figura 33.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus.*

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

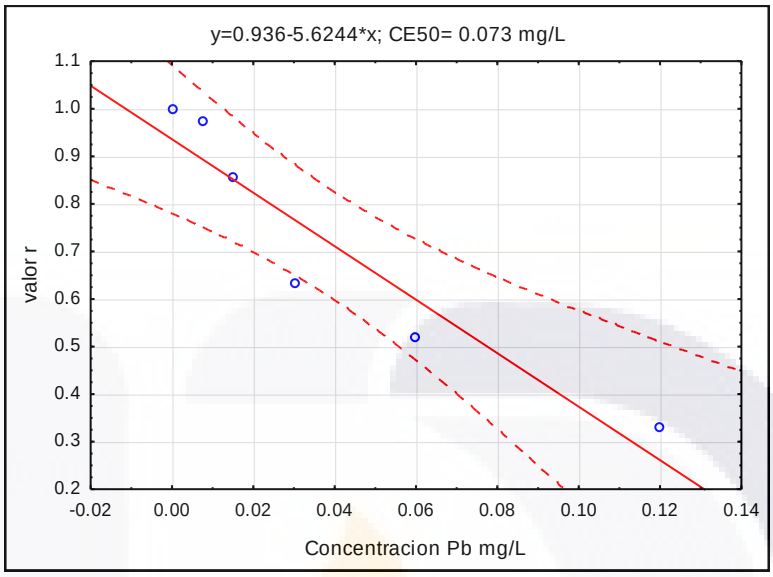

Figura 34.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus.*

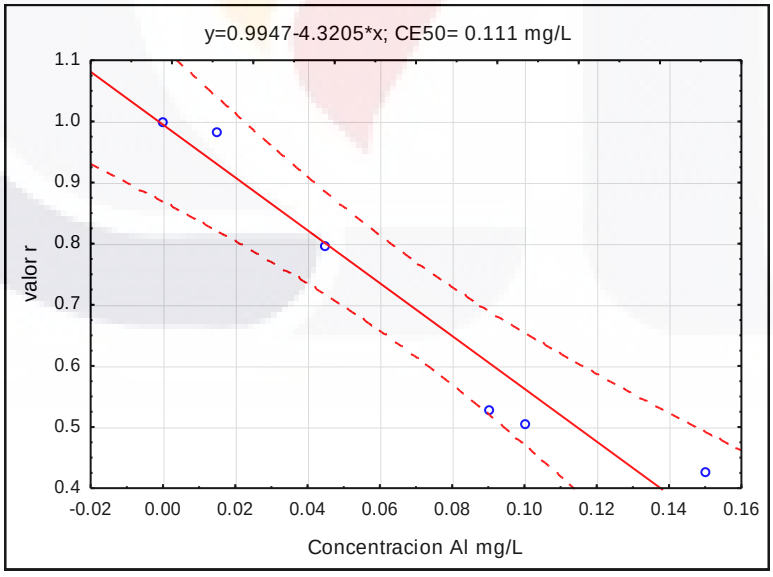

Figura 35.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *A. brightwelii* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de 0.06 indivduos/L de *B. calyciflorus.*

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 8. Valores de toxicidad aguda con *B. calyciflorus* con cinco metales.

Metal	CE50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.038	0.0002	0.006	0 .91	7.69	0.0268-0.05004
Zn	0.045	0.002	0.008	0.74	5	0.0168-0.0732
Pb	0.080	0.002	0.008	0.92	5.71	0.0581-0.1028
Fe	0.090	0.006	0.018	0.86	3.26	0.0557-0.1255
Al	0.092	0.00086	0.0043	0.85	6.23	0.0509-0.1339

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

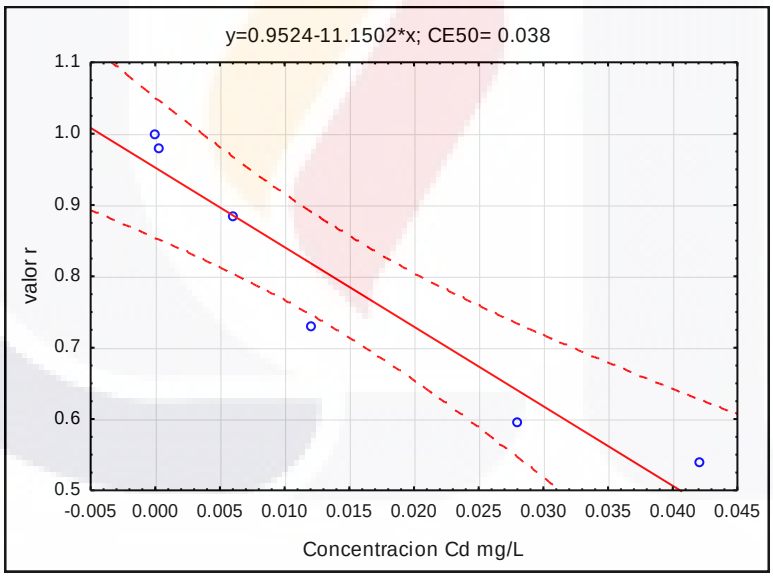

Figura 36.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

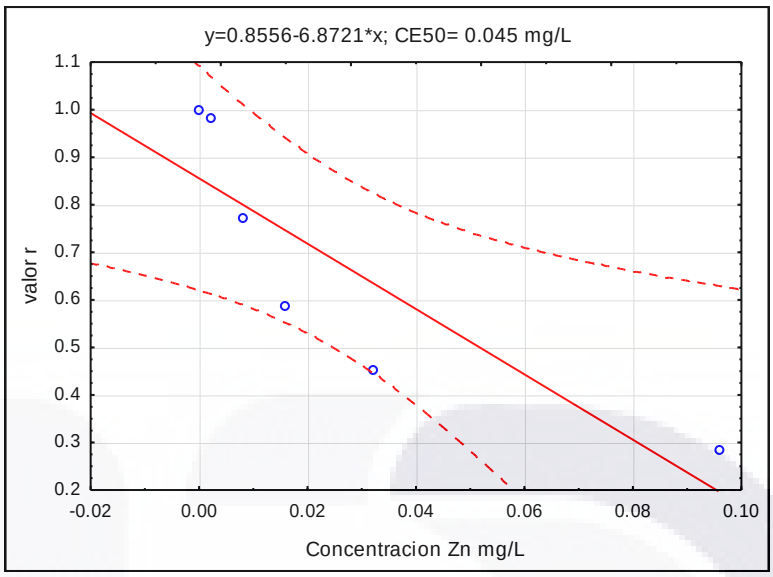

Figura 37.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*.

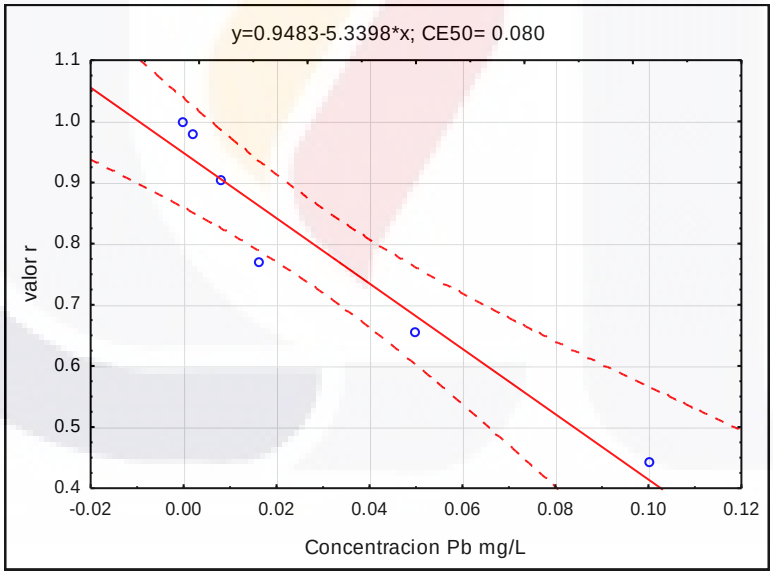

Figura 38.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

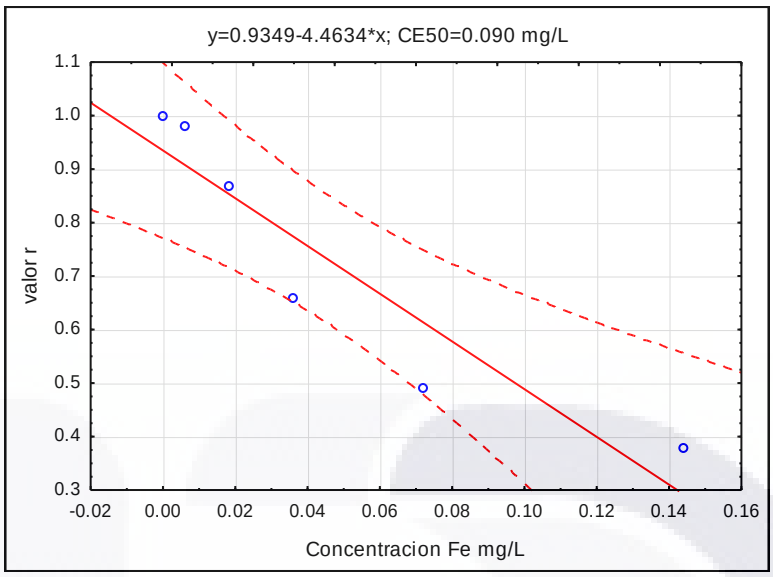

Figura 39.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*.

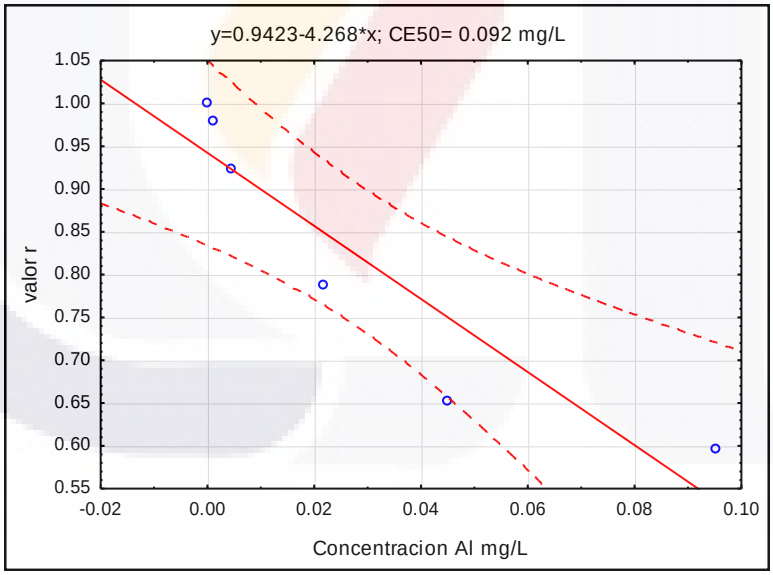

Figura 40.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *B. calyciflorus* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ del alga *N. oculata*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 9. Valores de toxicidad crónica con *D. magna* con cinco metales.

Metal	EC50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.0024	0.000006	0.00012	0.93	6.66	0.0017-0.0031
Pb	0.022	0.0036	0.014	0.67	4.34	0.0050-0.0390
Fe	0.057	0.005	0.01	0.83	4	0.0320-0.0820
Al	0.061	0.0002	0.008	0.83	1.51	0.0330-0.0900
Zn	0.067	0.00005	0.0007	0.68	2.81	0.0190-0.1150

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

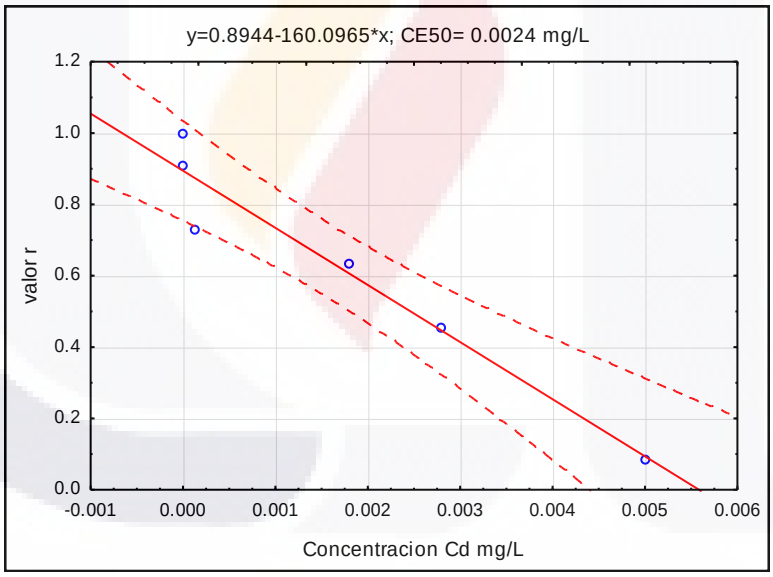

Figura 41.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

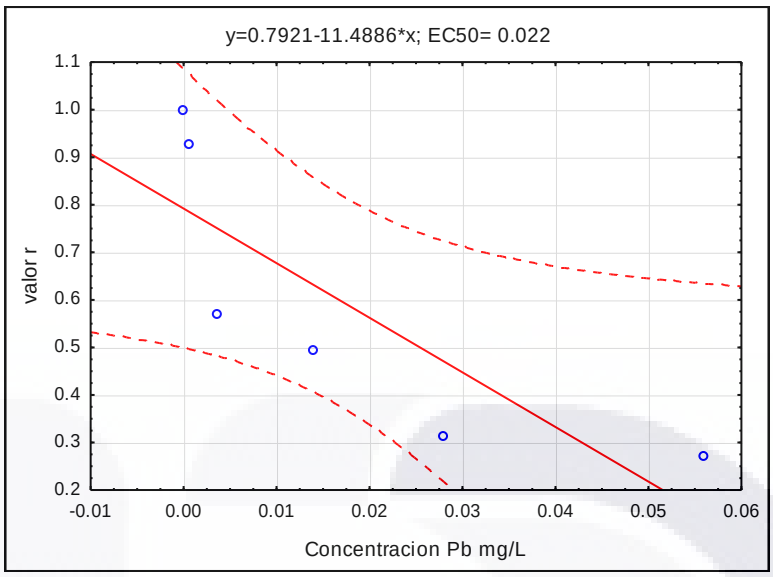

Figura 42.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

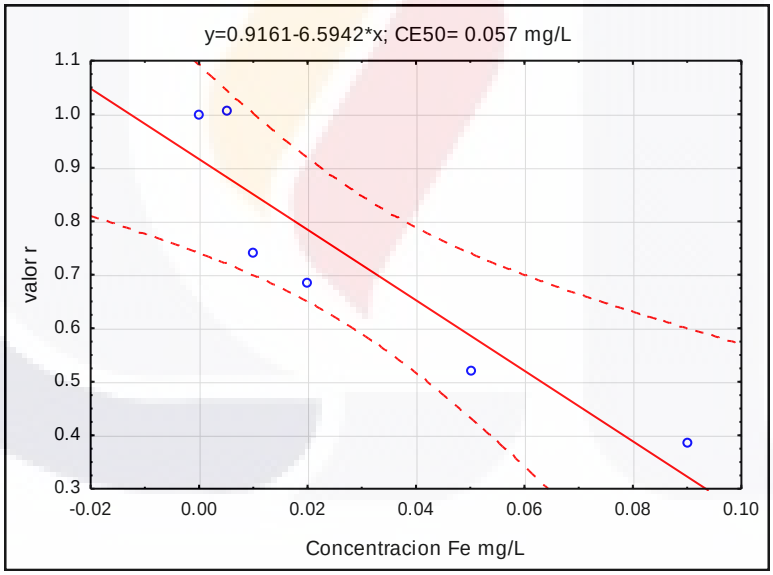

Figura 43.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

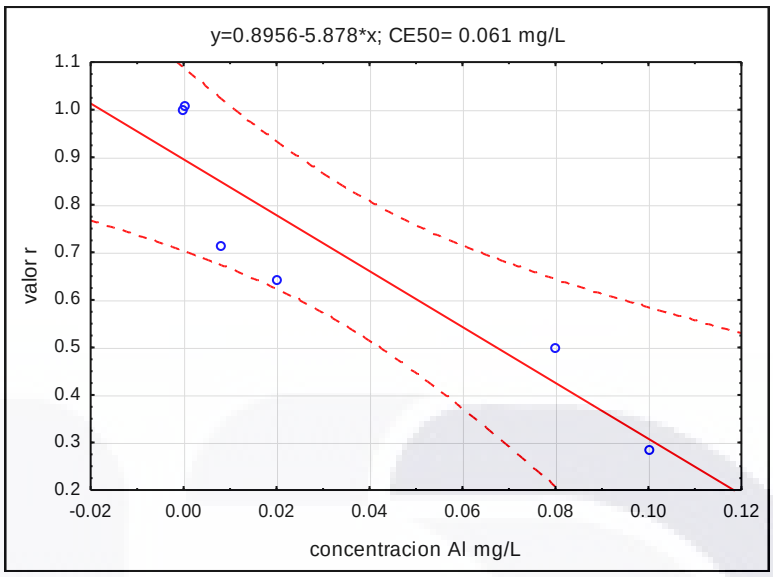

Figura 44.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

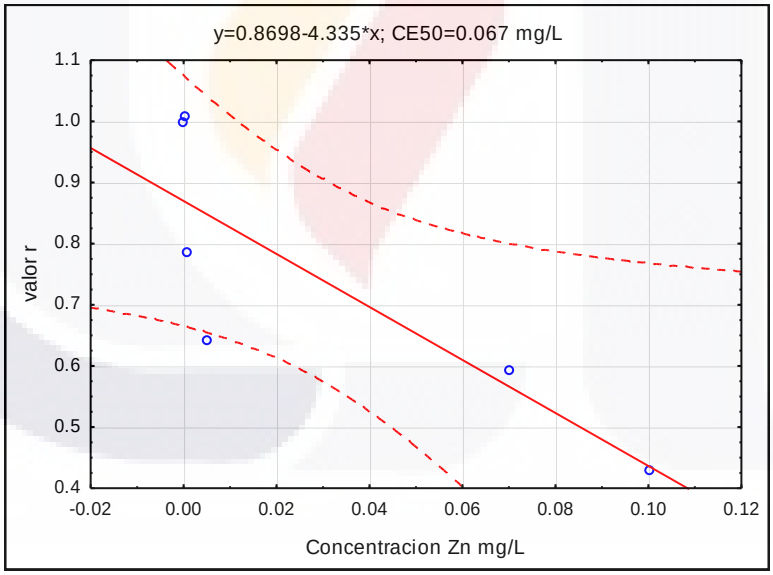

Figura 45.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. magna* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 10. Valores de toxicidad crónica con *D. pulex* con cinco metales.

Metal	EC50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Al	0.0083	0.00002	0.0005	0.85	6.25	0.0049-0.0118
Cd	0.021	0.0003	0.0625	0.77	2.38	0.0090-0.0330
Fe	0.024	0.0025	0.0045	0.68	8	0.0074-0.0422
Zn	0.042	0.0005	0.0075	0.70	5	0.0180-0.0670
Pb	0.058	0.002	0.012	0.84	2	0.0317-0.0848

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

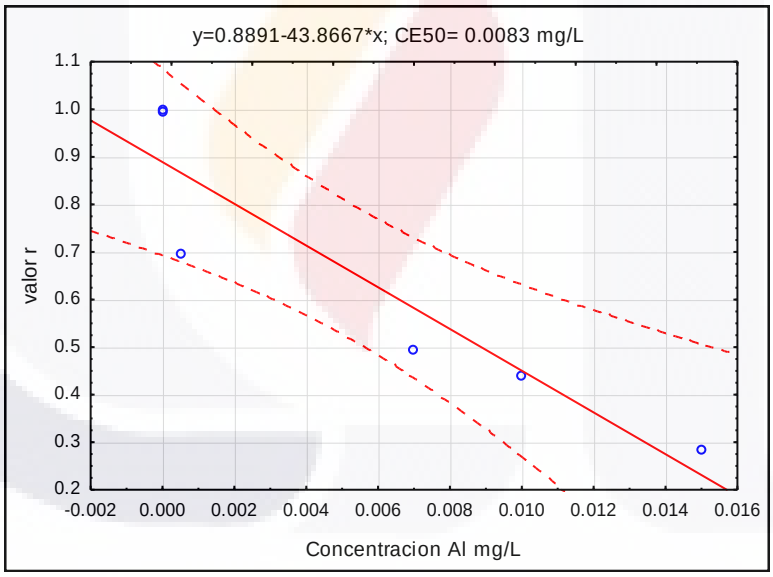

Figura 46.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

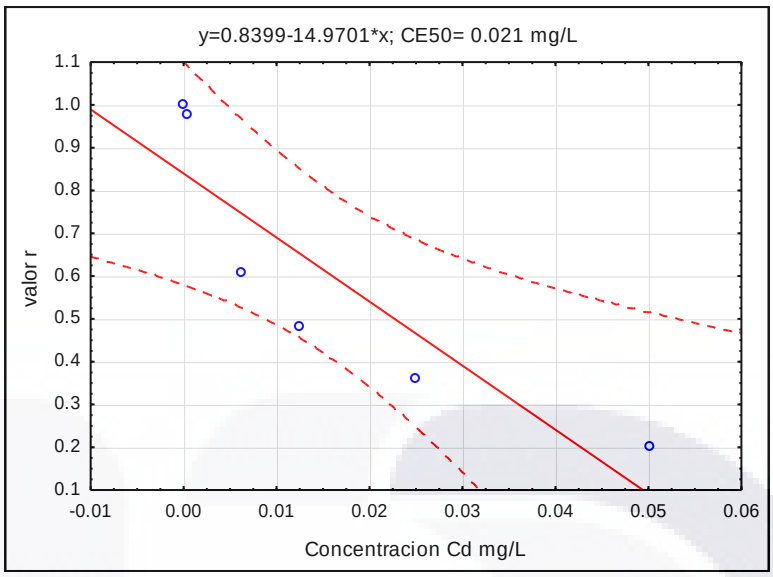

Figura 47.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

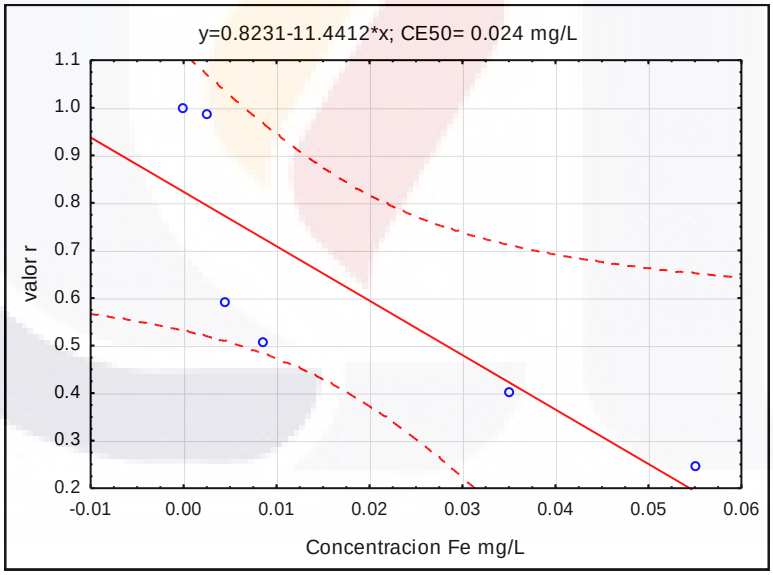

Figura 48.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

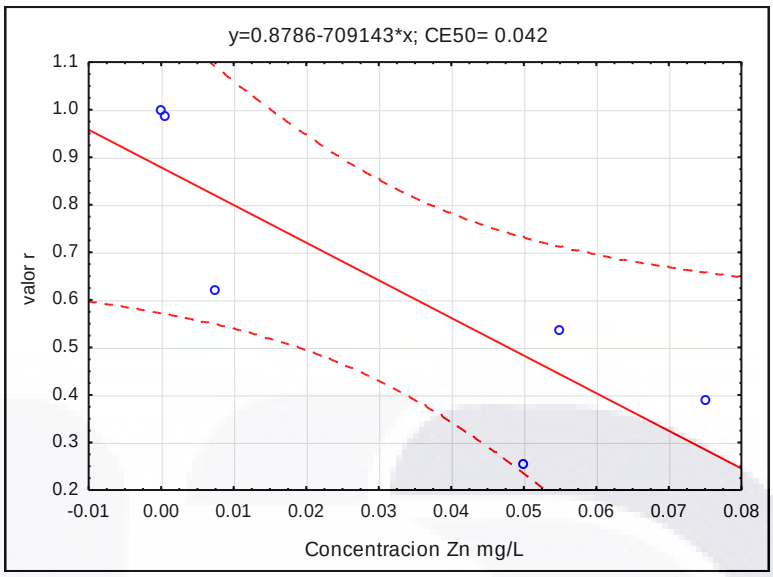

Figura 49.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

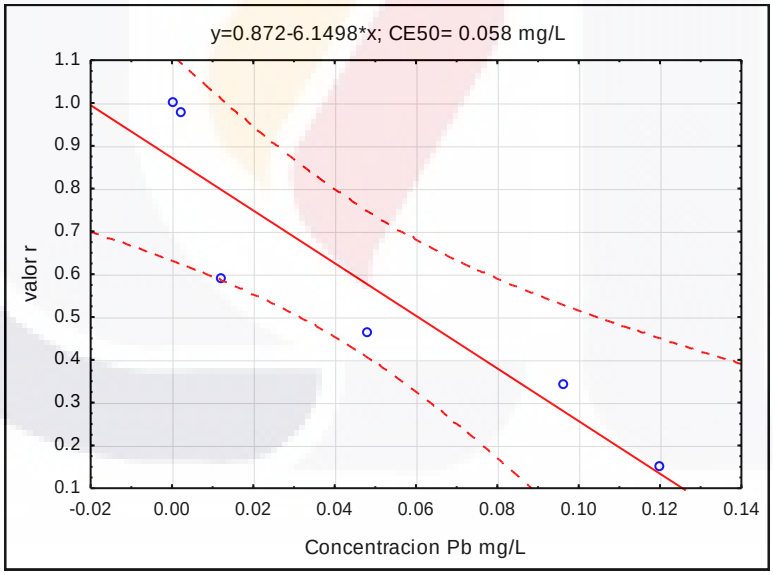

Figura 50.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *D. pulex* en un tiempo de 5 días con una concentración de alimento de $1x10^6$ cels/ml del alga *S. capricornotum*.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 11. Valores de toxicidad crónica con *N. oculata* con cinco metales.

Metal	CL50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.0075	0.0002	0.0008	0.63	11.42	0.0010-0.0140
Zn	0.021	0.003	0.006	0.73	3.33	0.0082-0.0340
Fe	0.030	0.0005	0.0085	0.75	3.33	0.0120-0.0483
Pb	0.368	0.062	0.125	0.83	1.77	0.2097-0.5276
Al	0.596	0.005	0.075	0.83	8.33	0.3159-0.8773

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

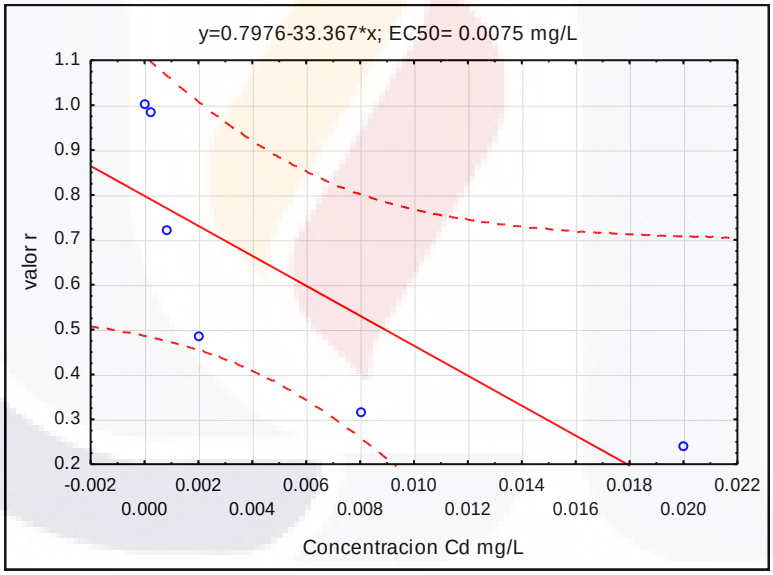

Figura 51.Grafica de regresión que muestra el efecto del Cd en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

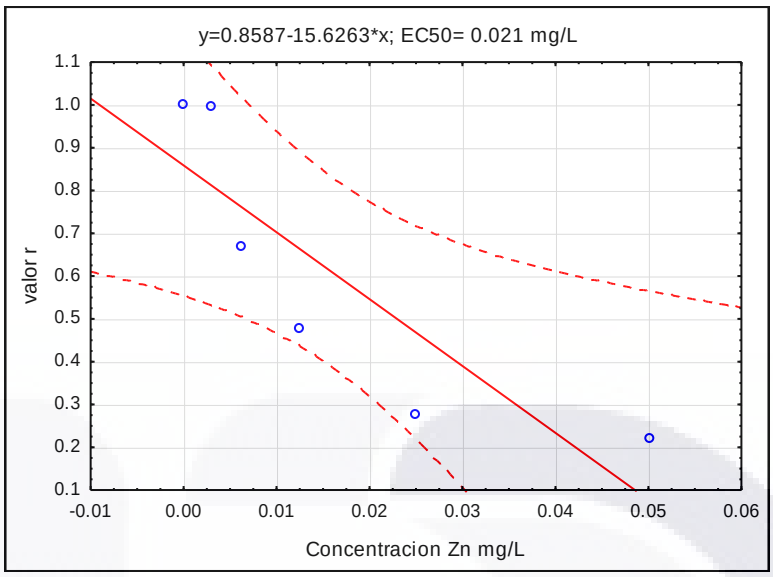

Figura 52.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs.

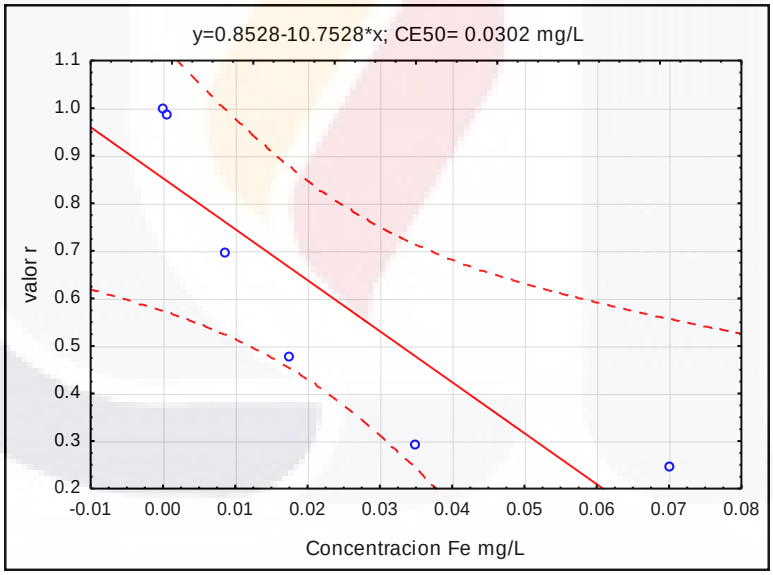

Figura 53.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

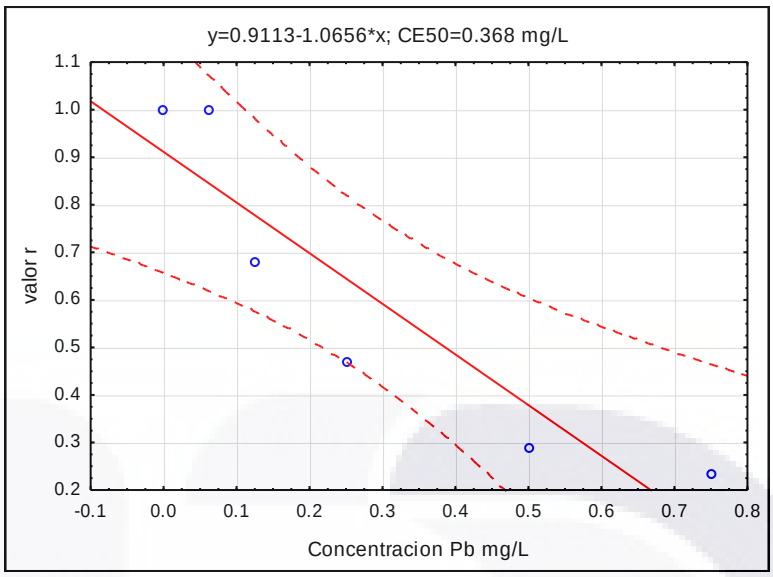

Figura 54.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs.

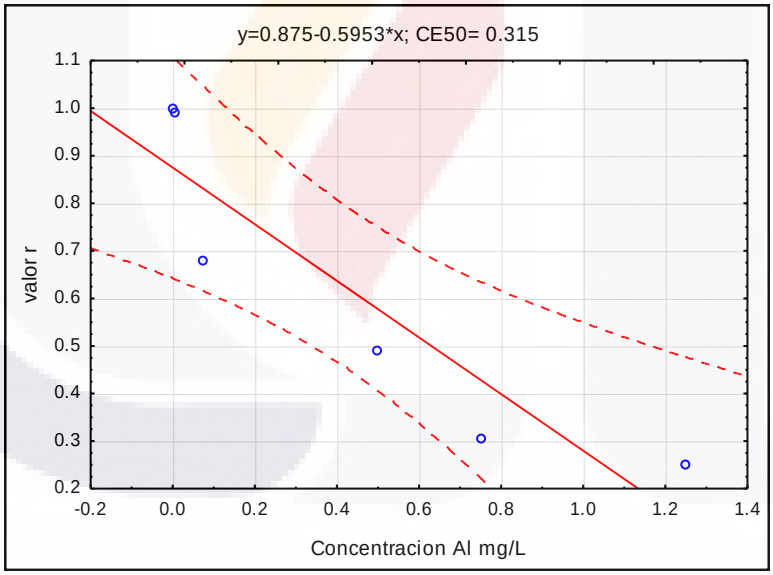

Figura 55.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *N. oculata* en un tiempo de 96 hrs.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Cuadro 12. Valores de toxicidad crónica con *S. capricornotum* con cinco metales.

Metal	EC50	NOEC	LOEC	r^2	CV%	LC
Cd	0.010	0.0001	0.003	0.74	5.4	0.0035-0.0165
Zn	0.017	0.0003	0.0062	0.71	3.52	0.0044-0.0304
Pb	0.028	0.005	0.01	0.68	3.21	0.0067-0.0499
Fe	0.302	0.018	0.054	0.77	3.01	0.1209-0.4846
Al	0.533	0.125	0.25	0.89	2.46	0.3864-0.6801

CL50 = Concentración letal donde el 50% de los organismos muere. NOEC = Concentración donde no se observa efecto. LOEC = Concentración mínima donde se observa efecto. r^2 = Coeficiente de determinación. *CV = Coeficiente de variación. CL = 95% Limites de confianza para los valores de CL50. p* > 0.05. Todos los valores en mg/L.

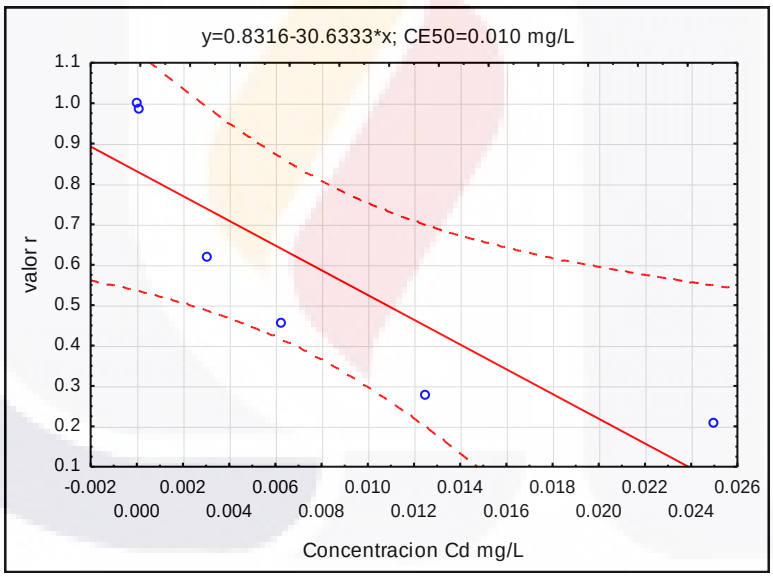

Figura 56.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

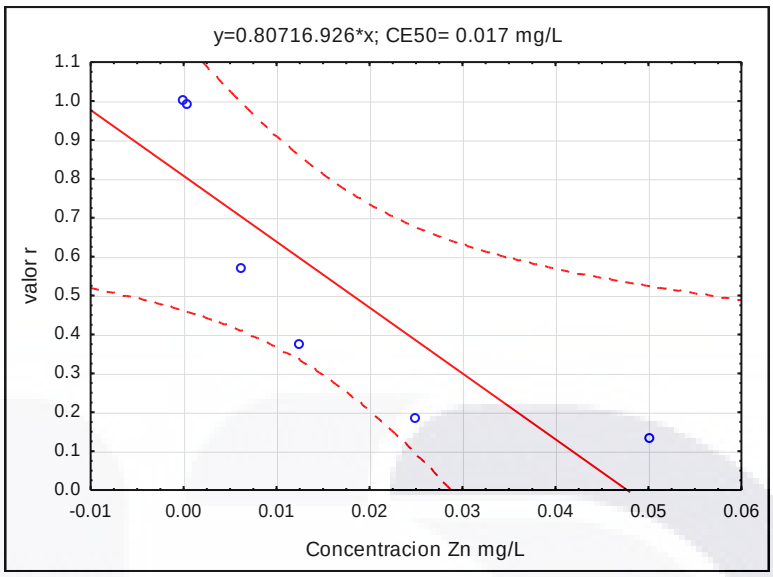

Figura 57.Grafica de regresión que muestra el efecto del Zn en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs.

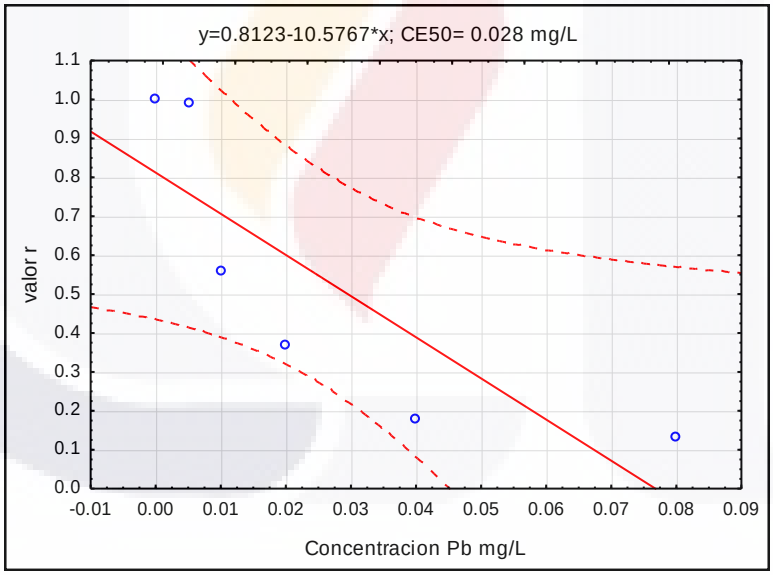

Figura 58.Grafica de regresión que muestra el efecto del Pb en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

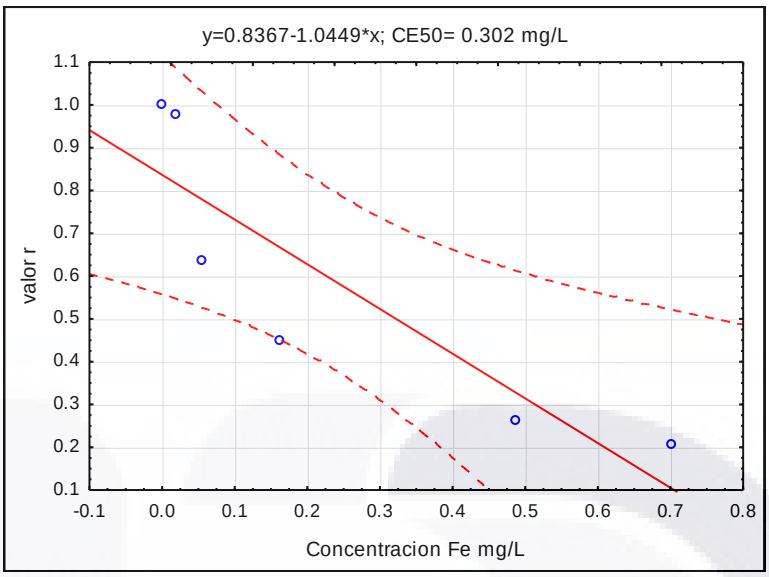

Figura 59.Grafica de regresión que muestra el efecto del Fe en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs.

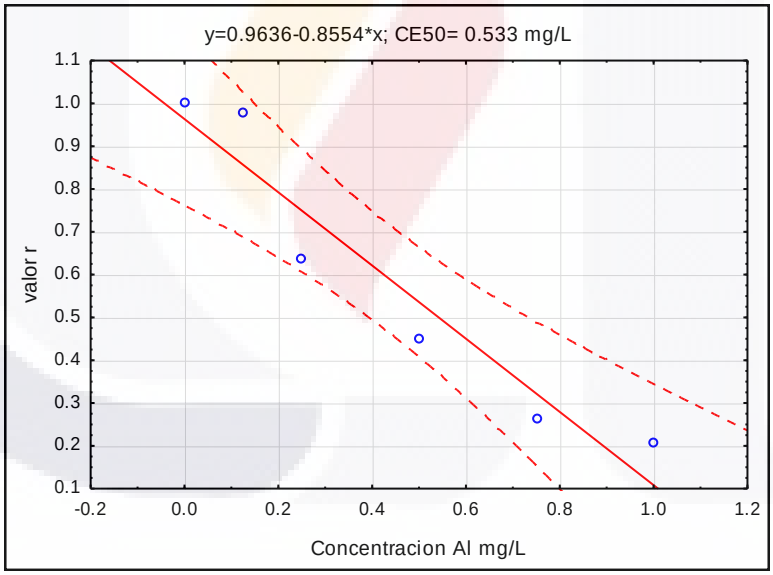

Figura 60.Grafica de regresión que muestra el efecto del Al en la tasa intrínseca de crecimiento de *S. capricornotum* en un tiempo de 96 hrs.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

10. DISCUSIÓN

10.1 TOXICIDAD AGUDA

Para *A. brightwelii* el CL50 del Cd (Fig. 1) comparado con copépodos depredadores, *Mesocyclops edax* CL50= 0.0005 mg/L prueba de 3 días (Marten & Reid, 2007), *Eurytemora affinis* CL50=0.13 mg/L prueba de 24h (Yoshida *et al*. 2000) y *Tropocyclops prasinus mexicanus* CL50=0.14 mg/L prueba de 96h (Stemberger & Gilbert, 1984) la diferencia fue 292 veces mayor, 1.1 mayor y muy similar, respectivamente. El CL50 (Fig. 2) del Al fue 3 veces menor que el reportado para la especie *Acantocyclops vernalis* CL50=0.54 mg/L prueba de 24h (Ramos-Rodríguez & Conde-Porcuna, 2004). Sullivan *et al*. (1983) calcularon un CL50= 0.147 mg/L a 96h valor muy similar al obtenido en este trabajo (Cuadro 1.)

En la prueba aguda con *B. calyciflorus* con Cd se obtuvo un CL50 de 0.094 mg/l (Fig. 6) siendo trece veces menor que le reportado por Snell *et al*. (1991 b) CL50= 1.3 mg/l, y 1.9 veces menor que el valor de Sarma *et al*. (2006) CL50=0.18 mg/L, Arulvasu et at. (2010) determinaron un CL50=0.8 mg/L siendo ocho veces mayor que el valor obtenido en este trabajo.

Para el Al se obtuvo un CL50=0.105 mg/L (Fig. 7) siendo menor al reportado por Snell et al (1991 b) CL50> 3.0 mg/L.

Se han determinado valores de CL50 para el Zn de 1.30 mg/L (Snell et al., 1991 b), 1.32 mg/L (Couillard et al., 1989), 1.65 mg/l (Nelson and Rolin, 1998) teniendo una diferencia promedio de 4.3 veces más sensible el valor de CL50 (Fig. 10) de este trabajo. El CL50 (Fig. 8) del plomo fue 16 veces menor que lo reportado por Snell et al. (1991 a) CL50> 4mg/L.

El valor de CL50 (Fig. 11) del Cd para *D. magna* fue 1.2 veces más alto que el reportado por Mount y Norberg (1984) para una prueba de 48h y CL50=0.118 mg/L. Stuhlbacher *et al*. (1993) obtuvieron un valor de CL50=0.129 mg/L cercano al valor obtenido en este trabajo. Dave *et al*. (1981) registran un valor de CL50=0.309 mg/L siendo el doble del obtenido en nuestra cepa.

Para el Zn se tienen reportados valores de De la Torre et al. (2000) CL50=0.1 mg/L, Mount y Norberg (1984) CL50=0.06 mg/L, Gale et al. (1992) CL50=0.098 mg/L, Erten-Unal et al. (1998) CL50= 0.210 mg/L en pruebas de 24h encontrándose diferencias de 2.57, 4.28, 2.62 y 1.22 veces mayor comparado nuestro CL50 (Fig. 12) de *D. magna* en una prueba de 24h.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Dave (1984) reporta que concentraciones de 0.256 mg/L inhiben la supervivencia en *D. magna*, siendo este un valor muy cercano al CL50 (Fig. 14) al que se determino en este estudio.

Bartell *et al*. (1992) calcularon un CL50=0.450 mg/l para el Pb, por otra parte Gale et al. (1992) obtuvieron un CL50=0.395 mg/L, teniendo un promedio de diferencia mayor de 1.95 del CL50 (Fig. 15) calculado en es este trabajo.

El valor de CL50 (Fig.16) del Cd para *D. pulex* fue 0.03 (Hall et al., 1986, CL50=0.089 mg/L), 0.05 (Stackhouse y Benson, 1988, CL50= 0.07 mg/L) y 1.89 (Mount et al., 1984, CL50=0.068 mg/L) veces mayor en pruebas de 48h.

Los valores de Zn reportados son CL50= 0.50 mg/L (Cairns et al., 1978), CL50= 0.107 mg/L (Mount y Norberg, 1984) y CL50= 0.740 mg/L (Lee, 1976) en pruebas de 48h, siendo 1.9, 9.1 y 1.3 veces menor que el CL50 (Fig. 19) calculado en este ensayo para *D. pulex.*

Mount y Norberg (1984) obtuvieron un CL50= 0.107 mg/L con duración de 48h para *D. pulex*, observándose una diferencia de nueve veces menor que el CL50 (Fig.19) a 24h en este estudio.

Bartlett y Rabe (1974) reportan para *S. capricornotum* que una concentración de Zn de 0.7 mg/L tiene función de algicida, este valor es muy similar al CL50 (Fig. 26) obtenido. Los mismo autores para la misma especie reportan que una concentración de Cd de 0.65 mg/L tiene la misma función, este valor es muy cercano al obtenido para el LOEC (Cuadro 6).

10.2 TOXICIDAD CRÓNICA

Lalande and Pinel-Alloul (1986) reportan para *Tropocyclops prasinus mexicanus* un EC50=0.05 mg/L de Zn en una prueba de 2 días, siendo muy similar para *A. brightwelii* en una prueba de 5 días (Cuadro 7).

Preston et al. (2000) en una prueba de 4 días con *B. calyciflorus* calcularon el NOEC=0.004 mg/L de Cd, siendo 0.05 veces menor al calculado en la prueba de 5 días con la misma especie (Cuadro 8). El valor de EC50 (Fig. 36) de Cd para *B. calyciflorus* es 1.9 veces mayor que el obtenido por Snell y Carmona (1995) EC50= 0.020 mg/L en 72 horas.

Baillieul *et al*., (2005) en una prueba de 14 días con *D. magna* tuvieron un LOEC=0.0364 mg/L de Cd, 266 veces mayor que el obtenido (Cuadro 9), Enserik et al., (1993) un

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

LOEC=0.0023 mg/L en 21 días valor muy similar al EC50 (Fig41), Van Leeuwen et al., (1985) EC50=0.032 mg/L en 21 días midiendo la tasa intrínseca de crecimiento, 13.3 veces mayor que el obtenido (Cuadro 9).

Enserink *et al*., (1991) calcularon un EC50=1.7 mg/L de Pb en 21 días, siendo 77 veces mayor que obtenido (Fig. 42).Biessinger y Christensen (1972) reportan que una concentración de Pb de 0.030 mg/l causan una discapacidad del 16% en la reproducción de *D. magna* en un tiempo de 3 semanas, es 1.36 veces menor que el calculado (Cuadro 9) en este trabajo. Dave (1984) reporta que una concentración mayor de 0.001mg/L estimula el crecimiento en *D. magna*, esta concentración es 5 veces menor que el NOEC obtenido para la prueba de 21 días (Cuadro 9).

Winner (1986) establece un valor de NOEC=0.0038 mg/L de Cd en 21 días, este valor es 12 veces mayor que el calculado en este trabajo (Cuadro 10).

Bartlett *et al.*, (1974) reporta un LOEC=0.05 mg/L de Cd en 4 días con *S. capricornotum*, Thellen *et al*., tuvieron un valor de EC50= 0.056 mg/L en el mismo periodo de tiempo, este valor corresponde a la mitad del EC50 (Fig. 56) con duración de 4 días. En contraste Bozeman *et al.* calcularon un IC50=10.5 mg/L de Cd que es 1050 veces mayor (Fig. 56) de este estudio.

En pruebas de 72h lcon Zn los valores reportados son, Van Ginneken (1994a) EC50=0.136 mg/L, Van Woensel (1994a) EC50=0.150 mg/L teniendo una diferencia de 0.119 mg/L y 0.133 mg/L, respectivamente con el valor de EC50 obtenido (Fig. 57). Barlett *et al.*, reportan que un valor de 0.03 mg/L se observa una reducción del crecimiento, sin especificar el tiempo, esto equivale a 100 veces el valor del NOEC (Cuadro 12) de la cepa empleada en este estudio.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

CONCLUSIÓN

En esta investigación se determinaron los valores agudos (CL50) y crónicos (EC50) de diferentes organismos ubicados en distintos niveles de la cadena trófica, en base a los resultados obtenidos se puede observar que *B. calyciflorus* fue más sensible en las pruebas agudas para el Cd, Al, Fe (Cuadro 2) y Pb. *A. brightwelii* fue más sensible para el Zn (Cuadro 2). Los valores obtenidos de CL50 para cada especie tuvo diferencias estadísticamente significativas.

En las pruebas agudas con los cladóceros, *D. pulex* fue más sensible para el Fe, Zn y Pb (Figs. 17, 19 y 20). El valor de CL50 del Cd para ambos cladóceros no tuvo diferencias estadísticamente significativas, lo mismo sucedió con el valor del Al (Fig. 17) de *D. magna* y el valor del Cd (Fig. 16) de *D. pulex*, mismo caso del Zn (Fig. 12) de *D. magna* y Cd (Fig. 16) de *D. pulex*.

S. capricornotum fue más sensible al Zn, Cd, Pb y Al (Figs. 26, 27,28 y 29) y *N. oculata* al Fe (Fig. 24). Para *S. capricornotum* los valores de CL50 del Cd y Pb no tuvieron diferencias estadísticamente significativas (Cuadro 6).

Para las pruebas que miden la tasa intrínseca del crecimiento en rotíferos *B. calyciflorus* fue más sensible para el Cd, Zn y A (Figs. 36,37 y 40) y *A. brightwelii* para Fe y Pb (Figs. 31 y 34). Los valores que no tuvieron diferencias estadísticas fueron, Fe de *A. brightwelii* con su valor de Cd, el Zn de *B. calyciflorus* con el Cd de *A. brightwelii*, el Fe de *A. brightwelii* con Cd de *B. calyciflorus* y el Fe de *B. calyciflorus* con el Al de *A. brightwelii.*

En las pruebas de 21 dias con los cladóceros, *D. pulex* fue más sensible para el Al, Fe y Zn, *D. magna* lo fue para el Cd y Pb. Los valores de EC50 que no tuvieron diferencias estadísticas fueron, Pb de *D. magna* con Cd de *D. pulex*, Pb de *D. pulex* con Al de D. magna y Pb de *D. pulex* con Fe de *D. magna*.

En las pruebas de 96h con las algas, *N. oculata* fue más sensible al Fe, Al y Pb, ambas especies de algas presentaron la misma sensibilidad al Cd y Zn al no observarse diferencias significativas. Para el *N. oculata* los valores que fueron estadísticamente iguales son Fe, Cd y Zn. Para *S. capricornotum* los valores sin diferencias fueron Zn y Cd.

En base a los resultados observados no es posible que un solo organismo sea un biomarcador que presente la mayor sensibilidad a cualquier toxico, por eso la importancia de implementar baterías de bioensayos que incluyan organismos de diferentes niveles tróficos que servirá para tener una mejor idea de lo que puede suceder en un medio

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

natural y de misma forma establecer valores que sirvan para proteger a la flora y fauna acuática.

La hipótesis planteada no se cumplió totalmente, los resultados obtenidos muestran que no siempre los organismos de niveles tróficos inferiores son más sensibles.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

REFERENCIAS

Allen, Y., Calow, P., Baird, D. J. 1995. A mechanism model of contaminant-induced feeding inhibition in Daphnia magna. Environ. Toxicol. Chem. 14:1625-1630.

Aqua Survey Newsletter. 1991. Publication 800/654-4684. Aqua Survey, Flemington, NJ, USA.

Arulvasu, Chinnasamy., Padmini, Kumar., Prabu, Perumal., Thangaraju, Nallamuthu., Dinesh, Devadoss and Sellamuthu, Subramani. 2010. Evaluation of cadmium toxicity on the population growth of Brachionus plicatilis (O. F. Müller). Indian Journal of Science and Technology. Vol. 3 No. 1.

Bernman, M. S., y D. C. Heinle. 1980. Modification of the feeding behavior of marine copepods by sublethal concentrations of water-accomodated fuel oil. Marine Biology, 56: 59-64.

Bitton, G. and B. Koopman. 1992. Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 125:1-22.

Bitton, G. and BJ. Dutka, eds. 1986. Toxicity Testing Using Microorganisms, Vol. 1 CRC, Boca Raton, FL, ESA.

Bitton, G., K. Rhodes, B. Koopman and M. Cornejo. 1995. Short-term toxicity assay based on daphnid feeding behavior. Water environ. Res. 67:290-293.

Bradley, M. C., Baird D. J., Calow, P. 1991. Mechanisms of energy allocation to reproduction in the cladoceran Daphnia magna Straus. Biol. J. Linn. Soc. 44-399-407.

Burbank, S., y T. W. Snell. 1994. Rapid toxicity assessment using esterase biomarkers in Brachionus calyciflorus (Rotifera). Environmental Toxicology and Water Quality, 9: 171-178.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Burton, G. A., Jr. and S. D. Leibfritz-Frederick. 1990. Comparisons of lethal and sublethal toxicity endpoints in Daphnia magna and Hyalella azteca sediments assays.

Cairns, J. 1986. Management of water quality and natural habitats to enhance both human and wildlife needs. Environmental Regeration II. Filadelfia – E.E.U.U. 86-99.

Campos, H. 1987. Los metales pesados, su contaminación y sus efectos tóxicos. Contaminación Ambiental, Medellín, Colombia. 9(17):63-70.

CRC Handbook of Chemistry and Physics, 78th edition, 1998-1999. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida.

Couillard, Y., P. Ross & B. Pinel-Alloul. 1989. Acute toxicity of six metals to the rotifer *Brachionus calyciflorus*, with comparisons to other freshwater organisms. *Toxicity Assessesment* 4(4):451-462.

Day, K. E., Kauushik, N. K., Solomon, K. R. 1987. Impact of fenvalerate on enclosed freshwater planktonic communities and on in situ rates of filtration of zooplankton. Can. J. Fish Aquat. Sci. 44:1714-1728.

Dekov, V.M., Araujo, F., VAN Grieken, R., Subramanian, V. (1998) Chemical composition of sediments and suspended matter from the Cauvery and Brahmaputra rivers (India). The Science of theTotal Environment 212, 89-105.

Den Dooren de Jong, L.E. 1965. Tolerance of *Chlorella vulgaris* for metallic and non-metallic ions. Antonie Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. 31: 301-313.

De Vitre R. R., B. Sulzberger and J. Buffle. 1994. Transformation of iron at redox boundaries. In Chemical and biological regulation of aquatic systems. CRC Press Inc.

Dowden, B.F. and H.J. Bennett, 1965. Toxicity of selected chemicals to certain animals. J. Water Pollut. Control Fed. 37(9): 1308-1316. En: AQUIRE (Aquatic toxicity Information Retrieval) database. U.S. Environmental Protection Agency, National Health and

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Environmental Effects Research Laboratory, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, Minnesota.

Elsa Marcela Ramírez López, Roberto Rico Martínez, Juan Zaragoza Almaraz, Francisco Javier Avelar González. 2007. Estudio sobre los agentes, cargas contaminantes y toxicidad que afectan a la cuenca del Río San Pedro del municipio de Aguascalientes y zonas aledañas. Reporte Final. CLAVE DE REGISTRO: AGS-2002-C01-4473.

Enserink, L. 1995. Food-mediated life history strategies in Daphnia magna: Their relevance to ecotoxicological evaluations. PhD thesis. Landbouwuniversitiet, Wageningen. The Netherlands.

Eisler, R. 1993. *Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review.* U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 10.

Erten-Unal, M., B.G. Wilxson, N. Gale and J. L. Pitt. 1998. Evaluation of Toxicity, Bioavailability and Speciation of Lead, Zinc and Cadmium in Mine/Mill Wastewaters, Chem.Spec.Bioavail. 10(2):37-46.

FAO. 1981. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4ª. Bases para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO, Doc. Tec. Pesca. (164): 34pp.

Fernández-Casalderry A., M. D. Ferrando, y E. Anreu-Moliner. 1994. Effect of sublethal concentrations of pesticides on the feeding behavior of Daphnia magna. Ecotoxicology and Environmantal Safety, 27: 82-89.

Fernandez, J.C., Ruiz, F.Galan, E. 1997 Clay mineral and heavy metal distributions in the lower estuary of Huelva and adjacent Atlantic shelf, SW Spain. The Science of the Total Environment 198, 181-200.

Furmanska, M. 1979. Studies of the Effect of Copper, Zinc and Iron on the Biotic Components of Aquatic Ecosystems. Polskie Archiwum Hydrobiologii 26:1/21/2.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Geiger, J.G., y A.L. Jr. Buikema. 1981. Oxygen consumption and filtering rate of Daphnia pulex after exposure to water-soluble fractions of nephtalene, phenantrene, No. 2 fuel and coal-tar creosite. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 27: 783-789.

Greeson, P. E. 1982. An annotated key to the identification of commonly occurring and dominant genera of algae observed in the phytoplankton of the U.S. Geological Survey Water Supply, Paper 2079. Washington, DC.: U.S. Government Printing Office.

Harte, J., C. Holdren, R. Schneider & C. Shirley. 1995. Guía de las sustancias contaminantes. El libro de los tóxicos de la A a la Z. Grigalbo. México. pp. 465-468, 511-514.

Henry, L. 1988. Recomendaciones concernientes a la selección de organismos para bioensayos acuáticos.

Hoffman J. David, Rattner A. Barnet, Burton G. Allen Jr., y Cairns Jhon Jr. 2003. Hanbook of Ecotoxicology, Lewis Publishers.

Hodgson, E. & P. E. Levi 1997. A Textbook of Modern Toxicology. 2ª Ed. Appleton and Lange. U. S. A. 496 pp.

Hughes, J.S. 1973. Acute toxicity of thirty chemicals to striped bass (*Morone saxatilis*) La. Dep. Wildl. Fish. 318-343-2417:15 p. En: AQUIRE (Aquatic toxicity Information Retrieval) database. U.S. Environmental Protection Agency, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, Minnesota.

Larsson, A.; B. Bengtsson and C. Haux. 1981. Disturbed ion balance in flounder, Platichthys flesus L. exposed to sublethal levels of cadmium. Aquatic Toxicology. 1:19-35.

Lee, C.R., Craddock, G.R.1969. Factors affecting plant growth in high zinc médium. Agron Journal.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). 1997. Recarga artificial de acuíferos con agua residual pretratada (primera etapa). Informe Final. Coordinación de Tecnología Hidrológica: 68 pp. Y 4 anexos.

Irwin, R. J., VanMouwerik, M., Stevens, L. Seese, M. D. y Basham W. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. National Park Service, Water Resources Division, Fort Collins, Colorado. Distributed within the Federal Government as an Electronic Document (Projected public availability on the internet or NTIS: 1998).

Jak, R. 1997. Toxicant-induced changes in zooplankton communities and consequences for phytoplankton development . PhD Thesis. TNO, Den Helder, The Netherlands.

Jannsen, C. R. and G. Persoone. 1993. Rapid toxicity screening tests for aquatic biota. 1. Methodology and experiments with Daphnia magna. Environ. Toxicol. Chem. 12:711-717.

Juchelka, C. M., and T. W. Snell. 1995. Rapid toxicity assessment using ingestion rate of cladocerans and ciliates. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 28: 508-512.

Juchelka, C.M. and T.W.Snell, 1994. Rapid Toxicity Assesment Using Rotifer Ingestion Rate. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 26. 549-554.

Karlsson-Norrgren, L.; I. Bjrklund; O. Ljungberg & P. Runn. 1986. Acid water aluminium exposure: gill lesions and aluminium accumulation in farmed brown trout, *Salmo trutta* L. Journal of Fish Diseases. 9: 1-9.

Klaassen, C. D. & J. B. Watkins III. 2001. Manual de toxicología. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México. 981pp.

Lampert, W., W. Fleckner, E. Pott, U. Schober, y K. Storkel. 1989. Herbicide effects on planktonic systems of different complexity. Hydrobiologia 188/189: 415-424.

Lewontin, R. 1974. The genetic basic of evolutionary change. Columbia University Press. New York – USA.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Maciorowski, A. 1981. Bioassays-Procedures and results. Water Pollut. Control Federation. 53(6): 974-993.

Mount, D. I. and . Norberg, T. J. 2009. A seven-day life cycle cladoceran toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry.* Volume 3, Issue 3, pages 425–434, July 1984

Marten Gerald, G. & W. Janet Reid. 2007. Cyclopoid copepods. *Journal of the American Mosquito Control Association.* 23: sp2, 65-92.

Martínez-Tabche, L., Ramírez, M., German, F., Galar, C., Madrigal, M.,Ulloa, G. y Orozco, F. 1997. Toxic effect of sodium dodecylbencensulfonate, lead, petroluem, and their mixtures on the activity of acetylcholinesterase of Moina macrocopa in vitro. Environ. Toxicol. Water. Qual. 12: 211-215.

McDonald, D. D. y Ingersoll G. C. Guidance manual to support the assessment of contaminated sediments in freshwater ecosystems. 2000. Volume I An ecosystem-based framework for assessing an managing contaminated sediments. Unites States Environmental Protection Agency Great Lakes National Program Office. 77 West Jackson Boulevard (G—17J) Chicago Illinois 60604.

Miller, W. E. ; S. A. Peterson, J. C. Greene and C. A. Callahan.1985. Compartive Toxicology of laboraotorie Organisms for assesement of hazardous waste sites. J. Environ. Qual. 14:569-574.

Mount, D.I. and T.J. Norberg. 1984. A seven-day life-cycle cladoceran toxicity test. Environ. Toxicol. Chem. 3(3): 425-434. En: AQUIRE (Aquatic Toxicity Information Retrieval) database. U.S. Environmental Protection Agency, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Mid-Continent Ecology Division.

Nebeker, A. V., M. A. Cairns, J. H. Gakstatter, K.W. Malueg, G. S. Schuytema and D.F. Krawczyk. 1984. Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. Environ. Toxicol. Chem. 3:617-630.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Neiderlehner, B. R., A. L. Buikema, Jr., C. A. Pittinger and J. Cairns, Jr. 1984. Effects of cadmium on the population growth of a benthic invertebrate Aelosoma headlety (Oligochaeta). Environ. Toxicol. Chem. 3:255-262.

Nelson, C.H., Lamothe, P.J. 1993. Heavy metals anomalies in the Tinto and Odiel river and estuary system, Spain. Estuaries 16, 496-511.

.

NOM-127-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana de salud ambiental, agua para uso y consume humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Dirección General de Salud Ambiental. Diario Oficial de la Federación. México: 71 páginas.

Norma Mexicana que establece el método de prueba de toxicidad aguda con *Daphnia magna* Straus (Crustacea-Cladocera). NMX-087-1995.

Nyholm n. and T. Källqvist. 1989. Methods for growth inhibition toxicity tests with freshwater algae. Environmental Toxicology and Chemistry l 8: 679-703.

Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 1984a. Alga growth inhibition test. Test Guideline No. 201. OECD Guidelines for testing chemicals. Paris.

Paggi, J. y de Paggi, S. 2000 Daphnia magna: el "canario" de las aguas.

Paquin, P. R., K. Farley, R. C. Santote, C. D. Cavadas, K. G. Mooney, R. P. Winfield, Wu K.-B., D. M. Di Toro. 2003. Metals in aquatic systems: a review of exposure, bioaccumulation, and toxicity models.

Pennak, R. W. 1989. Fresh-Eater Invertebrates of the United States. Protozoa to Mollusca. 3rd Ed. Jhon Wiley & Sons, INC. United States of America.169-225.

Peuranen, S.; P. J. Vuorinen; M. Vuorinen & H. Tuurala. 1993. Effects of acidity and aluminium on fish gills in laboratory experiments and in the field. The Science of the Total Environmental (Suplement): 979-988.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Prósperi. 2000. Uso de algas como indicadores de contaminación acuática. Revista Agua Nº 128. Año XXV. Tecnología y Tratamiento. Saneamiento Ambiental: 61 – 63.

Ramos-Rodríguez, Eloisa & José M. Conde-Porcuna. 2004. Impact of copepod predation on the fecundity of *Keratella choclearis* (Rotifera). *Archiv für Hydrobiologie* 4 (12): 541-522.

Rand, G. M. 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Segunda Edición. CRC Press. Boca Raton, Florida, E.U.A.: 1125.

Rodríguez, J. y Esclapés, M. 1995. Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas. Versión 1.0. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. INTEVEP. PDVSA. Venezuela. 109pp.

Roesijadi, G. and W. E. Robinson. 1994. Metal regulation in aquatic animals: mechanisms of uptake, accumulation, and release. In Aquatic toxicology, molecular, biochemical and cellular perspectives. CRC Press Inc.

Ruppert, E. y Barnes, R. 1996. Zoología de los invertebrados. McGraw-Hill Interamericana Editores. México – México. 759-762, 793.

Salomons, W. 1995 Environmental impact of metals derived from mining activities: processes, predictions, prevention. Journal Geochemical Exploration 52, 5-23.

Sarma S. S. S., F. Martínez-Jerónimo, T. Ramírez-Pérez & S. Nandini. 2006. Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Joumal of Environmental Science and Health* Part A. 41: 543-558 (2006).

Siangdung W., M. Tanticharoen and B. Bunnnag. 1994. Effect of Sandoz 9785 on gamma-linolenic acid (GLA) in Spirulina Z19/2: 161-164. *En*: Phang, S. M. *et al*. (ed). Algal

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Biotechnology in the Asia-Pacific Region.: Proceeding of the first Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology. University of Malaya. Kuala Lumpur. 349p.

Snell, T.W., B.D. Moffat, C. Janssen & G. Persoone. 1991a. Acute toxicity tests Using Rotifers III. Effects of temperature, strain and exposure time on the sensitivity of *Brachionus plicatilis*. *Environmental Toxicology and Water Quality* 6: 63-75.

Snell, T. W. and C. R. Janssen. 1998. Microscale Testing with rotifers. En: Microscale Testing in Aquatic Toxicology. Wells, Lee y Blaise (eds.). CRC Press. Boca Raton, Florida, E.U.A.: p. 409-422.

Snell, T.W., B.D. Moffat, C. Janssen & G. Persoone. 1991b. Acute Toxicity Tests Using Rotifers IV. Effects of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 21(3): 308-317.

Sosnowski, S., Germond, D. y Gentile, J. 1979. The effect of nutrition on the field populations of the calanoid copepod Acartia tonsa to copper. Water Research 13(5): 449-452.

Sullivan, B. K., E. Buskey, D.C. Miller & P.J Ritacco. 1983. Effects of Copper and Cadmium on Growth, Swimming and Predator Avoidance in *Eurytemora affinis* (Copepoda). *Marine Biology* 77 (3): 299-306.

Stemberger, R. S. & J. J. Gilbert. 1984. Spine development in the rotifer *Keratella choclearis*: induction by cyclopoid copepods and *Asplanchna*. *Freshwater Biology* 14: 639-647.

Stuhlbacher A, Bradley M C, Naylor C. 1993. Variation in the development of cadmium resistance in *Daphnia magna* Straus; Effect of temperature, nutrition, age, and genotype. Environ Pollut. 80: 153–158

Svobodová, Z.; R. Lloyd; J. Máchová & B. Vykusová. 1993. Water quality and fish health. FAO Roma. 67 p.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Tortorelli, M. y Hernández, D. 1995. Calidad de agua de un ambiente acuático sometido a efluentes contaminantes. Ecosistemas de Aguas Continentales. Tomo I. Ediciones Sur. La Plata – Argentina. 217-230.

U.S. Environmental Protection Agency: 1971a, Algal assay: Bottle test. Corvallis, OR: National Eutrophication Research Program, Pacific Northwest Environmental Research Laboratory.

U.S. Environmental Protection Agency: 1971b. Inter-laboratory precision test-an eight laboratory evaluation of the Provisional Algal Assay Procedura Bottle Test. Corvallis, OR: National Eutrophication Research Program, Pacific Northwest Environmental Research Laboratory.

U.S. Environmental Protection Agency: 1985a Toxic substances control act test guidelines; final rules. Fed. Regist 50: 797.1050, 797.1075 and 797.1060.

Villamar, F. 1996. Bioensayo de toxicidad (CL_{50}) del dispersante de petróleo BP 1100 WD, con fitoplancton marino (Tetraselmis sp). Acta Oceanográfica del Pacífico. INDOCAR, Ecuador, 8(1): 67-73

Walker, C. H., S. P. Hopkin, R. M. Sibly, y D. B. Peakall. 2006. Principles of Ecotoxicology. Tercera edición. CRC Press. Boca Raton, Florida, E. U. A.: 315 pp.

Yoshida, T., S. Ban, T. Takenouchi, T. Aono, Y. Ishikawa, H. Mikami, K. Takano, K. Imada, K. R. Yasotomi & K. Takeuchi. 2000. Top-down control of population dynamics of the dominant rotifers in two mesotrophic lakes in Hokkaido, Japan. *Archiv. für Hydrobiologie*

Zweig, R.; J. Morton y M. Stewart. 1999. Source water Quality for Aquaculture. A Guide for Assessment. Environmentally and Socially Sustainable Development. Rural Development. 62 pp.Volume: 148, Issue: 4, p. 481-498

.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS