



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TESIS

**ESTUDIO DE LA TOXICIDAD LETAL Y SUBLETAL DE LOS
METALES Co, Cr, Mg y Pb, Y SUS RUTAS DE ENTRADA Y
DISTRIBUCIÓN EN EL ROTÍFERO *Euchlanis dilatata***

PRESENTA

Ricardo González Figueroa

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN ÁREA DE
TOXICOLOGÍA

TUTORES

Dr. Roberto Rico Martínez

Dr. Gustavo Emilio Santos Medrano

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORAL

Dra. Elsa Marcela Ramírez López

Aguascalientes, Ags, 15 de junio del 2021

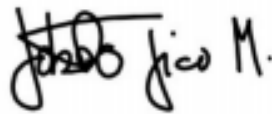
CARTA DE VOTO APROBATORIO
COMITÉ TUTORAL

JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
PRESENTE

Por medio del presente como **Miembros del Comité Tutorial** designado del estudiante **RICARDO GPNZÁLEZ FIGUEROA** con ID **97455** quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO DE LA TOXICIDAD LETAL Y SUBLETAL DE LOS METLES CO, CR, MG Y PB Y SUS RUTAS DE ENTRADA Y DISTRIBUCIÓN EN EL ROTÍFERO EUCHLANIS DILATATA**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 15 de junio de 2021.



Dr. Roberto Rico Martínez
Tutor de tesis



Dr. Gustavo Emilio Santos Medrano
Co-Tutor de tesis



Dra. Elsa Marcela Ramírez López
Asesor de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-16
Actualización: 00
Emisión: 17/05/19



DICTAMEN DE LIBERACION ACADEMICA PARA INICIAR LOS TRAMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación: 15/06/2021

NOMBRE: RICARDO GONZÁLEZ FIGUEROA ID 97455
PROGRAMA: TOXICOLOGÍA
TIPO DE TRABAJO: [X] Tesis
TÍTULO: ESTUDIO DE LA TOXICIDAD LETAL Y SUBLETAL DE LOS METALES Co, Cr, Mg y Pb, Y SUS RUTAS DE ENTRADA Y DISTRIBUCIÓN EN EL ROÑEDRO Eucheula dicentra
IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): GENERAR CONOCIMIENTO CIENTÍFICO

INDICAR SI/NO SEGÚN CORRESPONDA:

Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:

- Si El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
Si La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
Si Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
Si Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
Si Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
Si El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
Si Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
Si Generó transferencia del conocimiento o tecnológica

El egresado cumple con lo siguiente:

- Si Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
Si Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
Si Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
Si Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
Si Coincide con el título y objetivo registrado
Si Tiene congruencia con cuerpos académicos
Si Tiene el CVU del Conicyt actualizado
NA Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)

En caso de Tesis por artículos científicos publicados:

- NA Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
NA El estudiante es el primer autor
NA El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
NA En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
NA Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
NA La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado

Si X
No

FIRMAS

Elaboró:

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

Elsa Marcela Ramírez López
Dra. en C. Elsa Marcela Ramírez López

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

Dra. en C. Rogelio Guerrero Alba

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del MIB de la LGAC correspondiente directo al tutor o miembros del comité tutorial, asignado por el Decano.

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

Dra. en C. Haydee Martínez Buakaba

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. Jorge Martín Allieros Chávez

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 139C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico... Cobrir la efeméride terminal del programa de posgrado y el Art. 139F las funciones del Secretario Técnico, Revise el seguimiento de los alumnos.

Elaborado por: D. Apoyo al Posg.
Revisado por: D. Control Docente/O. Gestión de Calidad.
Aprobado por: D. Control Docente/O. Apoyo al Posg.

Código: 00-024-FO-05
Actualización: 03
Edición: 26/06/19

AGRADECIMIENTOS

Es importante agradecer a la Universidad Autónoma de Aguascalientes y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación.

Una especial mención a mis tutores Gustavo Emilio Santos Medrano y Roberto Rico Martínez, quien con sus conocimientos y apoyo me guiaron a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba; por su paciencia, compromiso y buen humor en todo momento. A mi asesora Elsa Marcela Ramírez López que siempre pude contar con su consejo para mejorar la calidad del trabajo.

Por último, quiero agradecer a mi familia, por apoyarme aún cuando mis ánimos decaían. En especial, quiero hacer mención a mi esposa Suleima Adilene Lechuga López, que siempre ha estado ahí para darme palabras de apoyo y un abrazo reconfortante para renovar energías. A mi madre Alma Elena Figueroa Ruvalcaba y a mi padre Ricardo González Pérez por siempre estar dispuestos a ayudar en mis dudas y cuestionamientos en la redacción del documento.

Muchas gracias a todos.

ÍNDICE GENERAL

1. Índice de tablas.....	2
2. Índice de figuras.....	3
3. Resumen.....	4
4. Abstract.....	5
5. Presentación.....	6
6. Marco teórico.....	7
6.1. Antecedentes.....	7
6.2. La ecotoxicología como ciencia.....	9
6.3. Contaminación en ecosistemas acuáticos.....	11
6.4. Métodos de análisis en ecotoxicología.....	12
6.5. Metales.....	14
6.5.1. Plomo.....	15
6.5.2. Cromo.....	16
6.5.3. Cobalto.....	17
6.5.4. Magnesio.....	18
7. Metodología.....	18
7.1. Prueba de toxicidad letal.....	18
7.2. Prueba de toxicidad subletal por inhibición del crecimiento poblacional....	19
7.3. Bioconcentración.....	19
8. Resultados.....	20
9. Discusión.....	26
10. Conclusión.....	31
11. Glosario.....	32
12. Bibliografía.....	34

1. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados cuantificados en las pruebas letales para Pb, Cr, Co y Mg.....	21
Tabla 2. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Pb.....	23
Tabla 3. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Cr.....	24
Tabla 4. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Co.....	24
Tabla 5. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Mg.....	24
Tabla 6. Resultados cuantificados en la prueba de bioconcentración para Pb y Cr.....	25
Tabla 7. Comparación de CL ₅₀ de <i>Euchlanis dilatata</i> en su exposición al Pb (24 h) con otros estudios.....	25
Tabla 8. Comparación de CL ₅₀ de <i>Euchlanis dilatata</i> en su exposición al Cr (24 h) con otros estudios.....	26
Tabla 9. Comparación de CL ₅₀ de <i>Euchlanis dilatata</i> en su exposición al Co (24 h) con otros estudios.....	28
Tabla 10. Comparación de CL ₅₀ de <i>Euchlanis dilatata</i> en su exposición al Mg (24 h) con otros estudios.....	28
Tabla 11. Comparación del factor de bioconcentración (FBC) de <i>Euchlanis dilatata</i> en su exposición al Pb con otros estudios.....	29
Tabla 12. Comparación del factor de bioconcentración (FBC) de <i>Euchlanis dilatata</i> en su exposición al Cr con otros estudios.....	30

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

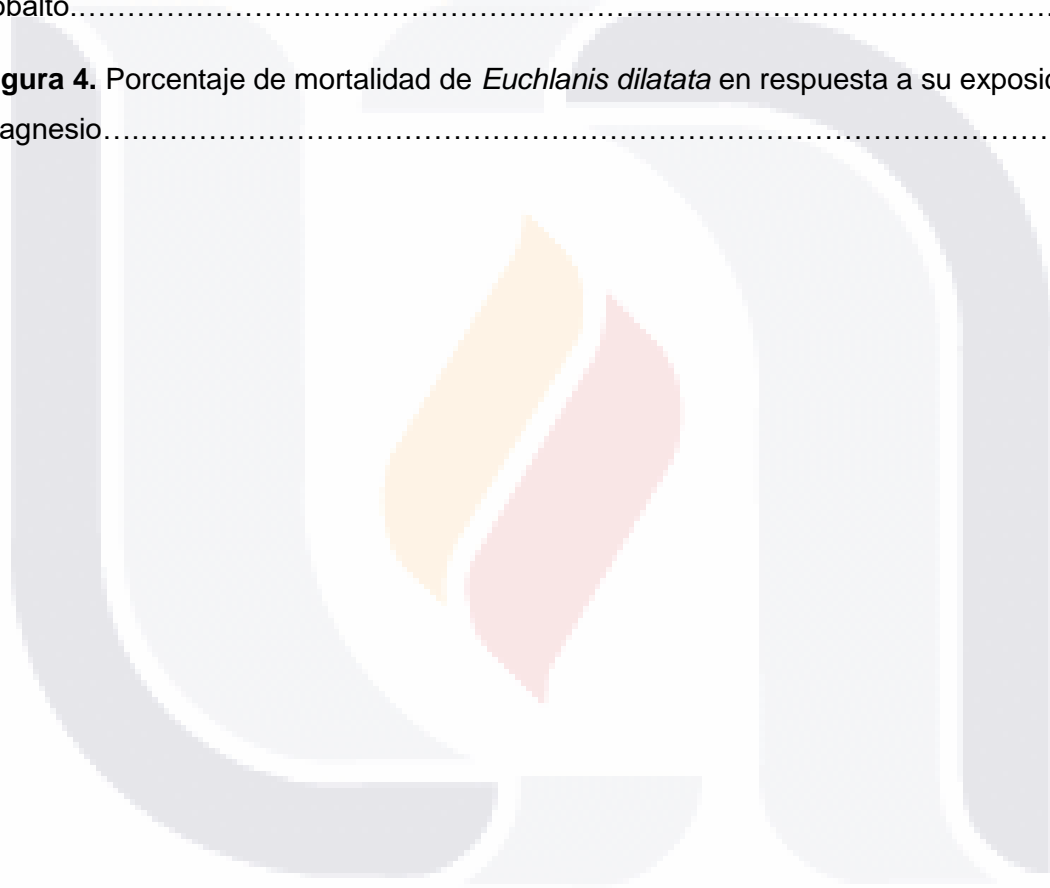
2. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al plomo.....21

Figura 2. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al cromo.....22

Figura 3. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al cobalto.....22

Figura 4. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al magnesio.....23



3. RESUMEN

Los metales son contaminantes prioritarios en el ambiente debido a su diversidad de usos en la actividad humana y por consecuencia una cantidad importante de descargas, su capacidad de bioacumularse, su movilidad en el ambiente y la biota transformándose en formas orgánicas más tóxicas y por los efectos tóxicos que desencadenan como daño en estructura y función celular, alteraciones fisiopatológicas y muerte celular. *Euchlanis dilatata* ha sido propuesto como un modelo aceptable como biomarcador en áreas litorales para metales debido a su alta sensibilidad reportada, aunque es necesario mayor evaluación. Las CL₅₀ determinadas en las pruebas letales son 0.162 (Pb), 0.057 (Cr), 0.072 (Co) y 0.398 mg/L (Mg), realizando un ANOVA de una vía entre los resultados podemos concluir el grado de toxicidad letal de los metales en el rotífero *E. dilatata* siendo (Cr=Co) > Pb > Mg, destacando que el rotífero es más sensible al cobalto que al plomo. Para las pruebas subletales se realizó el método de inhibición del crecimiento poblacional, no se logró cuantificar las CE₅₀ debido a que nunca se alcanzó la inhibición subletal del 50% del crecimiento necesaria; por lo que se puede concluir que *E. dilatata* no es sensible a éste tratamiento crónico, sugiriendo para futuros trabajos realizar pruebas subletales como la inhibición de enzimas. Finalmente se cuantifico el factor de bioconcentración para Pb (260.38 mg/L) y para Cr (96.18 mg/L). Un FBC mayor de 500 indica que el organismo es elegible para tratamientos de biorremediación y a su vez es peligroso por la facilidad de integrar contaminantes en la cadena trófica, igualmente un FBC > 100 es considerado posiblemente peligroso para el ambiente.

Palabras clave: Rotífero, Toxicidad, Bioconcentración, Metales.

4. ABSTRACT

Metals are priority pollutants in the environment due to their diversity of uses in human activity and consequently a significant amount of discharges, their ability to bioaccumulate, their mobility in the environment and biota, transforming into more toxic organic forms and due to the toxic effects that they trigger, such as damage to cell structure and function, pathophysiological alterations and cell death. *Euchlanis dilatata* has been proposed as an acceptable model as a biomarker in littoral areas for metals due to its reported high sensitivity, although further evaluation is necessary. The LC₅₀ determined in the lethal tests are 0.162 (Pb), 0.057 (Cr), 0.072 (Co) and 0.398 mg / L (Mg), performing a one-way ANOVA between the results we can conclude the degree of lethal toxicity of the metals in the rotifer *E. dilatata* being (Cr = Co) > Pb > Mg, highlighting that the rotifer is more sensitive to cobalt than to lead. For the sublethal tests, the population growth inhibition method was performed, the EC₅₀ could not be obtained because the sublethal growth inhibition of 50% was never reached; Therefore, it can be concluded that *E. dilatata* is not sensitive to this chronic treatment, suggesting for future work to perform sublethal tests such as enzyme inhibition. Finally, the bioconcentration factor was quantified for Pb (260.38 mg / L) and for Cr (96.18 mg / L). A BCF greater than 500 indicates that the organism is eligible for bioremediation treatments and in turn is dangerous due to the ease of integrating contaminants into the food chain, likewise a BCF > 100 is considered possibly dangerous for the environment.

Key words: Rotifer, Toxicity, Bioconcentration, Metals.

5. PRESENTACIÓN

Los metales se han convertido en contaminantes prioritarios por su amplio uso antropogénico y por ende en su liberación a los cuerpos naturales, afectando la flora y fauna de los sitios, consecuentemente que es de gran relevancia el evaluar el grado de impacto que los metales realizan al ambiente. Los rotíferos son un modelo experimental idóneo para este tipo de evaluaciones debido principalmente a que son la base de la cadena alimenticia, de ahí su importancia para evitar oportunamente la incorporación de los metales en los ecosistemas.

El presente trabajo busca evaluar la respuesta del rotífero *Euchlanis dilatata* en su exposición aguda y crónica a los metales plomo, cromo, cobalto y magnesio por medio de la cuantificación estadística de la CL_{50} , CE_{50} y la tasa intrínseca de crecimiento (r). Se busca comparar los resultados con la bibliografía especializada en el tema para poder determinar la sensibilidad del rotífero con otras especies de zooplancton.

Igualmente se pretende cuantificar el factor de bioconcentración (FBC) de *E. dilatata* en su exposición a concentraciones no letales de plomo y cromo para poder concluir su posible uso en tratamientos de biorremediación y su peligrosidad en el ambiente al poder integrar contaminantes en la cadena alimenticia.

La tesis comienza con la redacción de un marco teórico que abarca cinco puntos a desglosar; antecedentes, la ecotoxicología como ciencia, contaminación en ecosistemas acuáticos, métodos de análisis en ecotoxicología y metales (Pb, Cr, Co y Mg). Seguido de la explicación de los procesos metodológicos empleados para los distintos tratamientos letales, subletales y de bioconcentración.

Seguimos con la parte más destacada del proyecto al exponer todos los datos obtenidos para proponer a la comunidad científica, así como la interpretación y conclusión de los mismos.

6. MARCO TEÓRICO

6.1 Antecedentes

La ecotoxicología, definida por primera vez por Truhaut en 1977, es una ciencia que ha tomado renombre en los últimos años debido a su enfoque en el estudio de los efectos adversos de xenobióticos en el ambiente, que a su vez pueden generar un daño directo o indirecto en el humano; siendo este el objeto de estudio de la toxicología ambiental.

La evolución del estudio de la dinámica de contaminantes en un medio natural ha creado la necesidad de crear modelos experimentales confiables que puedan ayudar a crear información relevante y hacer conclusiones precisas (Dahms et al., 2011). A raíz de dicha necesidad se han desarrollado estudios usando rotíferos como organismos modelos, el primer ensayo se realizó en 1964 (Cairns et al., 1978) aunque su auge se ha extendido ampliamente desde 1990 (Snell y Janssen, 1995).

Los rotíferos tienen características importantes que los hacen idóneos para su uso en modelos experimentales en toxicología. Son pequeños, simples en su organización, genéticamente homocigotos, fáciles de cultivar, ciclos de vida cortos y sensibilidad (Snell y Janssen, 1995; Dahms et al., 2011). De igual manera son relevantes como miembros del zooplancton y como consumidores primarios y secundarios de muchas cadenas tróficas acuáticas (Wallace et al., 2006).

Rico-Martínez et al. (2013) mencionan que se tiene una variedad considerable de protocolos bien definidos globalmente, describiendo en total resultados de 12 géneros y 35 especies de rotíferos. La evaluación de los resultados de las pruebas de toxicidad en rotíferos es muy variada e incluye ensayos de mortalidad, comportamiento e inhibición de reproducción, biomarcadores enzimáticos, biomarcadores de mRNA, inducción de estrés a proteínas e interacciones cazador-presa (Rico-Martínez et al., 2013).

Diversos tipos de pruebas de toxicidad se han realizado con rotíferos para poder generar mayor información que contribuya al conocimiento de dichos microorganismos acuáticos. Se ha evaluado la sensibilidad de distintas especies expuestas a diferentes tóxicos, observándose que la sensibilidad es variable entre especies, así como la sensibilidad de

una misma especie a distintos tóxicos (Versteeg et al. 1999; McDaniel y Snell, 1999; Pérez-Legaspi y Rico-Martínez, 2001).

La dinámica de poblaciones naturales de los rotíferos ha sido descrita al exponerse a distintos tipos de xenobióticos que pueden presentarse en el ambiente, ya sea por actividad antropogénica o por fenómenos naturales. Se ha evaluado, en poblaciones de rotíferos, el efecto de nutrientes (Wallace et al., 2006), metales (Monteiro et al., 1995), acidificación (Havens, 1992; González y Frost, 1994), pesticidas (Kreutzweiser et al., 2002), insecticidas y herbicidas (Hanazato y Kasai, 1995; Hanazato, 2001). También se han reportado los efectos de contaminantes domésticos, industriales y agrícolas sobre las comunidades de rotíferos (Sarma et al., 2003; Isidori et al., 2003; Park et al., 2005; Santos-Medrano et al., 2007; José de Paggi y Devercelli, 2010)

Los microcosmos se han convertido en una herramienta útil para realizar ensayos en laboratorio que puedan ser comparables con la realidad; por ello la experimentación con rotíferos por medio de microcosmos para evaluar los efectos tóxicos en los ecosistemas acuáticos ha tomado tanta importancia en la ecotoxicología (Rico-Martínez et al., 1998; Sugiura, 1992; Koteswari y Ramanibai, 2004 y Daam et al., 2010). Aunque también se han desarrollado ensayos de ecotoxicología con rotíferos con protocolos combinados de microcosmos y mesocosmos con el fin de confirmar la información obtenida en un ecosistema real expuesta a cierto tóxico con los resultados en laboratorio y exponer conclusiones sobre los efectos del tóxico y reducir el grado de incertidumbre (González y Frost, 1994).

Los estudios de determinación de factores de bioconcentración (FBC) en rotíferos son limitados. Dobbs et al. (1996) y Joaquim-Justo et al. (1995) determinaron el FBC de selenio y PCB's en *Brachionus calyciflorus* respectivamente. Posteriormente se realizaron estudios en *Brachionus plicatilis* para analizar la bioconcentración de mono-, di- y tributiltilo de estaño (Hong-Wen et al., 2001); recientemente se comprobó por primera vez la biomagnificación de plomo por organismos de niveles tróficos superiores (Rubio-Franchini y Rico-Martínez, 2008). Otros estudios se han enfocado en determinar la relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés) de contaminantes y su efecto en las comunidades de rotíferos; Versteeg et al. (1997) desarrollo un modelo paramétrico de predicción de QSAR a través de la experimentación con el efecto de surfactantes en *B. calyciflorus* en modelos de toxicidad crónica.

Desde el trabajo pionero de Snell y Carmona (1995) los rotíferos monogonontos son idealmente seleccionados para implementar ensayos para el estudio de disruptores endocrinos (Dahms et al., 2011) debido a que su ciclo de vida se alterna entre generaciones sexuales y asexuales.

Los rotíferos se han usado para evaluar la toxicidad de químicos inorgánicos como potasio, sodio, sulfatos e hipoclorito de sodio (Snell y Janssen, 1995). Actualmente el desarrollo de pruebas de toxicidad con rotíferos empleando agentes como metales, compuestos orgánicos y pesticidas es lo más ampliamente estudiado (Rico-Martínez et al., 2013) debido a que son contaminantes de importancia antropogénica por su alta toxicidad y en el caso específico de pesticidas que son considerados contaminantes emergentes.

Arias-Almeida y Rico-Martínez (2011a) han estudiado los efectos tóxicos de metales (Cd, Pb y Hg) y Arias-Almeida y Rico-Martínez (2011b) de pesticidas (Metil paratión) en *Euchlanis dilatata*, proponiéndolo como un modelo aceptable como biomarcador en áreas litorales para metales debido a su alta sensibilidad reportada, aunque es necesario mayor evaluación.

6.2 La ecotoxicología como ciencia

A lo largo de la historia humana se han presentado diversas enfermedades expandidas globalmente (epidemias) que han creado situaciones de alto riesgo de salud. A partir de ello se crea la necesidad del estudio de los mecanismos de acción de agentes nocivos en el humano a través de protocolos de análisis de su toxicidad, en virtud de la creación de dichos estudios nace lo que se conoce hoy como la toxicología tradicional que se enfoca en priorizar el estudio de los efectos adversos que se puedan presentar en el cuerpo humano por su exposición a sustancias, priorizando una visión antropocéntrica (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000a).

La actividad humana crea indudablemente un efecto sobre el ambiente, ya sea empleando los recursos naturales o emitiendo sustancias que puedan generar efectos sobre el ambiente receptor. En los últimos años se ha observado una alteración adversa considerable al ambiente debido a la contaminación generada por el hombre, esto ha obligado a la toxicología tradicional a crear una nueva línea de estudio; dejando atrás el enfoque antropocéntrico por un enfoque ambiental, concibiendo una nueva ciencia llamada

toxicología ambiental que estudia la acción de tóxicos en un medio natural (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000a).

Recientemente se ha discutido que los xenobióticos que se puedan presentar en el ambiente pueden movilizarse a través de sus componentes bióticos y abióticos por lo que una sustancia emitida no solamente es capaz de generar una respuesta en los organismos expuestos, sino que puede integrarse a cadenas tróficas o modificar su toxicidad por su interacción con las propiedades o componentes del ecosistema. Una vez establecida la movilidad e interacción de los xenobióticos en el ambiente, nace la ecotoxicología como ciencia de estudio de las vías de distribución de una sustancia dentro de un sistema natural (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000a), ampliando el campo de estudio de la toxicología ambiental que se limita a la medición e interpretación de los efectos tóxicos en el ambiente.

En ecotoxicología existe un concepto de medición conocido como “estrés” que es una respuesta o efecto, en cualquier nivel de organización ecológica, a un factor reciente que causa un detrimento o desorganización; los efectos del estrés pueden ser adversos, neutros o incluso benéficos al ecosistema. Al ser una ciencia de reciente reconocimiento aún carece de un marco científico específico por lo que muchos resultados aún se consideran ambiguos al no existir aun valores de referencia (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000a). Cabe señalar que al estudiar y buscar solución a la problemática ambiental actual indirectamente aún sigue los objetivos de la toxicología tradicional de proteger la salud humana.

El estudio de la respuesta que los contaminantes puedan generar en un ecosistema acuático se conoce como ecotoxicología acuática. El análisis de la contaminación del agua se basa en la definición de los criterios de evaluación de calidad ambiental, fundamentándose en dos procedimientos; primeramente, se realiza la evaluación directa de la toxicidad que es un parámetro integrador que permite crear información sobre los efectos tóxicos generados por compuestos presentes en el agua. En seguida se aplica un enfoque químico específico que establece la cuantificación específica de contaminantes en el agua para delimitar límites máximos permisibles, se aplica en efluentes sencillos con estructura definida y con información toxicológica existente (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000b).

6.3 Contaminación en ecosistemas acuáticos

El agua es el elemento más importante debido a que constituye mayoritariamente la materia viva y es el medio donde se llevan a cabo todos los procesos químicos y bioquímicos que posibilitan la vida. Es un recurso altamente demandado por las actividades productivas y de transformación por ende que sea considerado como un factor de desarrollo (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000b). Dada su importancia ambiental y en la actividad humana es prioritario su constante monitoreo para garantizar su calidad, estableciendo métodos para reducir su uso y desarrollar tecnologías para su tratamiento (Newman, 2015).

Existen diversas fuentes de contaminación de los ecosistemas acuáticos como las descargas de aguas contaminadas, la actividad del transporte, derrames accidentales o arrastre de agua de lluvia. Actividades donde se podría comenzar a tomar medidas para evitar la contaminación y mejorar la calidad del preciado recurso y garantizar su disponibilidad para generaciones futuras (Dahms et al., 2011).

Todo ecosistema tiene mecanismos por los cuales integra compuestos de la materia orgánica para su posterior degradación a minerales más simples para ser reintegrados en los ciclos bioquímicos o biológicos. Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo (2000b) define dicha capacidad de los cuerpos de agua como capacidad autodepurativa cuyo principio es que todo ecosistema trata de mantener un equilibrio ecológico y su resiliencia les permite soportar algunos impactos exógenos. Otra característica relevante de los ecosistemas es su capacidad de asimilar compuestos orgánicos sin modificar su estructura o función, llamada capacidad asimilativa (Wallace et al, 2006).

El destino de los tóxicos en un ecosistema puede ser en los factores abióticos al integrarse y movilizarse por los componentes del sistema por mecanismos físicos y químicos, alterando la toxicidad por relaciones interespecíficas, interacción entre toxones, calidad del agua e historia química. Igualmente puede depositarse en los componentes bióticos a través de fenómenos de bioacumulación, que es el aumento progresivo de la cantidad de una sustancia en un organismo, órgano o tejido debido a que la velocidad de absorción supera la velocidad de eliminación. Los factores que pueden modificar la toxicidad en factores bióticos son la edad, enfermedades, parasitismo, estatus reproductivo, estatus nutricional y el estado de desarrollo (Dahms et al, 2011).

Un tóxico ejerce cambios bioquímicos y moleculares que después se reflejan en cambios fisiológicos y de comportamiento en un organismo, a su vez los cambios en un organismo afectan la población, afectando comunidades donde ésta esté presente, creando cambios en ecosistemas. Este es el mecanismo por el cual un xenobiótico puede generar alteraciones por medio de los niveles tróficos (Newman, 2015).

Los rotíferos tienen un rol importante en la dinámica en los cuerpos de agua dulce y marina, debido a su posición en la cadena trófica pueden afectar las poblaciones de algas y la calidad del agua (Magesky y Pelletier, 2018). *Euchlanis dilatata* es una especie cosmopolita, grande y de movimiento lento, además de que está asociada a plantas acuáticas y sedimentos en áreas litorales (Segers, 2008) donde los contaminantes son generalmente depositados y aumenta su biodisponibilidad (Arias-Almeida y Rico-Martínez, 2011b). Por lo mencionado que sea de interés la evaluación de la toxicidad de la especie a los metales, aportando conocimiento sobre los efectos de los metales en zooplancton en zonas donde la exposición tiende a ser mayor.

6.4 Métodos de análisis en ecotoxicología

Algunos investigadores afirman que ningún instrumento, a pesar de su precisión y sensibilidad, que mida la respuesta a la presencia de un tóxico podrá compararse con un organismo vivo ya que éste cuenta con mecanismos desarrollados durante años por medio de la interacción con su medio. Gracias a la biología celular y molecular es posible detectar tempranamente el efecto tóxico en una población mediante el uso de biomarcadores que son métodos no invasivos para detectar lo antes posible una respuesta generada en el ecosistema (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000a).

Para lograr determinar efectivamente la respuesta toxicológica de un ecosistema a un agente exógeno se realizan pruebas de toxicidad que deben considerar ciertas características como la sensibilidad del organismo seleccionado, interpretación de la respuesta observada y cuantificada, extrapolación de resultados, variabilidad de resultados, confiabilidad y reproducibilidad (Snell y Carmona, 1995).

Se debe identificar un riesgo ecológico en el área de interés y se deben tomar acciones como determinar la concentración del xenobiótico en el ambiente, analizar tejidos en organismos afectados para observar la carga corporal del xenobiótico y realizar inventarios taxonómicos de fauna y flora con el fin de evaluar el nivel de contaminación que se pueda

generar al introducir una nueva sustancia al ambiente, evitando una posible contaminación futura al permitir o negar su emisión (Snell y Janssen, 1995).

Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo (2000a) menciona que una vez identificado un riesgo ecológico y realizado las pruebas toxicológicas en organismos se emplean herramientas de ecología para estudiar la dinámica de poblaciones y su respuesta al tóxico. Para el análisis de la movilidad de un tóxico en un ecosistema acuático existen dos parámetros determinantes, primeramente, la estimación de las relaciones cuantitativas de estructura actividad (QSAR, en inglés) y el coeficiente de partición octanol/agua que precisa la hidrofobia de un compuesto y su capacidad de acumularse o no en ciertos sustratos.

Existen dos tipos de medición de los efectos tóxicos que se basan en la concentración a la que se expone un organismo y la duración de la exposición. La respuesta aguda es inmediata y se da en exposiciones de corta duración, es útil para determinar concentraciones letales, aunque carece de relevancia ecológica ya que solo se compara en la realidad con eventos accidentales. La respuesta crónica o subletal se genera en diferentes niveles de los organismos expuestos a mediano o largo plazo, este tipo de toxicidad afecta poblaciones y comunidades en sistemas receptores sin ser fácilmente perceptibles, siendo en este caso muy usados los biomarcadores; es útil para determinar la concentración de seguridad, concentración de efectos no observados, mínima concentración de efectos observados, máxima concentración permisible del tóxico y el valor de seguridad en concentraciones crónicas (Newman, 2015).

Los modelos experimentales más reconocidos en ecotoxicología para determinar los cambios estructurales y funcionales en comunidades biológicas expuestas a un tóxico son los microcosmos que son sistemas de laboratorio que simulan físicamente un ecosistema real, siendo modelos que controla las variables experimentales, pero pierde en realismo. Los mesocosmos que son sistemas experimentales exteriores de un ecosistema, dificultando el control de variables, pero ganando en realismo; por último, son los modelos en ecosistemas naturales que son completamente realistas, pero son caros, son difíciles de manipular y no es posible realizar replicas experimentales (Snell y Janssen, 1995).

Debido al poco tiempo de desarrollo de la ecotoxicología como ciencia aún se carece de información toxicológica certera y de completa confiabilidad, para lograr implementar protocolos integrados en la legislación ambiental es necesario convertir la información existente en metodología controladas y sistematizadas. En México solamente se tienen tres

protocolos integrados en las normas mexicanas NMX-AA-087-1995-SCFI, NMX-AA-110-1995-SCFI y NMX-AA-112-1995-SCFI, aunque tienen la desventaja de que no son normas de carácter obligatorio y solo cubren parcialmente una evaluación de los efectos tóxicos pues omiten a tres comunidades del medio acuático, el fitoplancton, el necton y el bentos (Rico-Martínez y Martínez-Jerónimo, 2000a).

6.5 Metales

Los metales son compuestos inorgánicos empleados en la industria, agricultura, producción animal y la actividad doméstica. Algunos de ellos se consideran micronutrientes esenciales que su deficiencia causa efectos en la salud, aunque, al mismo tiempo, todos pueden llegar a ser tóxicos en concentraciones relativamente altas. Son contaminantes prioritarios en el ambiente debido a su diversidad de usos y por consecuencia una cantidad importante de descargas, su capacidad de bioacumularse, su movilidad en el ambiente y la biota transformándose en formas orgánicas más tóxicas y por los efectos tóxicos que desencadenan como daño en estructura y función celular, alteraciones fisiopatológicas y muerte celular (Newman, 2015; Semenovich, 2002, Adams et al., 2020). Por otro lado, se han reportado estudios donde los metales pueden generar inmunotoxicidad, mutaciones y variaciones genéticas y toxicidad por disruptores endocrinos (Hong y et al., 2020).

Los metales pueden ingresar a un organismo a través de diferentes vías. La transferencia de un contaminante de un nivel trófico a otro puede variar entre un 50-100%, en función de la afinidad de los metales pesados el contenido sulfuroso contenido en los aminoácidos, los iones metálicos son capturados por el organismo y permanecen contenidos en proteínas, acumulándose durante toda la vida del consumidor. Mientras más alto sea el nivel trófico, más alto será la cantidad de residuos en el organismo evaluado (Melnikov y de Freitas, 2011).

La toxicidad de un metal puede estar determinada por diversos factores como temperatura ambiental, oxigenación del agua, pH, dureza del agua y la presencia de otros compuestos con los cuales el metal pudiera interactuar. El incremento en la temperatura del agua, déficit de oxígeno disuelto, disminución del pH y la dureza son generalmente factores que incrementan la toxicidad de los metales, Simultáneamente la presencia de compuestos orgánicos y de otros metales en el agua pueden generar distintos efectos diferentes en la toxicidad (Semenovich, 2002).

La diversidad de factores que alteran la toxicidad de los metales ha llevado a la comunidad científica a considerar distintos modelos de evaluación de los sistemas bióticos contaminados. El método más usado es la evaluación de un organismo por individual a un metal en específico, lo cuál ha sido muy útil para determinar indicadores de mortalidad. Igualmente, Norwood et al. (2013) han propuesto un modelo de evaluación de los efectos tóxicos de zooplancton (*Hyalella azteca*) en su exposición a mezclas de metales para determinar el grado de influencia que pueden tener las interacciones entre los contaminantes en un medio en la repuesta toxicológica de un organismo. Recientemente han continuado las propuestas de modelos nuevos de evaluación de metales como la realizada por Adams et al. (2020) donde se explica su tentativa de introducir el modelo de ligando biótico en la cual consideran las reacciones entre el metal y cationes que ocurren naturalmente en el agua, modelando en función de la afinidad del ligando.

6.5.1 Plomo

La Organización Mundial de la Salud (2019) ha declarado al plomo como uno de los contaminantes prioritarios debido a los problemas de salud pública que ha causado, agregado a su comprobada biomagnificación (Rubio-Franchini y Rico-Martínez, 2011). El plomo metálico se utiliza en forma de planchas o tubos cuando se requiere una gran maleabilidad y resistencia a la corrosión, como en la industria química o en la construcción. También se utiliza para el revestimiento de cables, como componente de soldadura y como empaste en la industria automovilística. Es un material excelente como protector de radiaciones ionizantes. Se utiliza en los procesos de metalizado para proporcionar recubrimientos protectores y en la fabricación de acumuladores. El plomo se encuentra en una gran variedad de aleaciones y sus compuestos se preparan y utilizan en grandes cantidades en numerosas industrias. Aproximadamente un 40% del plomo se utiliza en forma metálica, un 25% en aleaciones y un 35% en compuestos químicos. Los óxidos de plomo se utilizan en las placas de las baterías eléctricas y los acumuladores, como agentes de mezcla en la fabricación de caucho (PbO) y en la fabricación de pinturas (Pb3O4) y como componentes de barnices, esmaltes y vidrio (ATSDR, 2021).

En el organismo humano, el plomo inorgánico no se metaboliza, sino que se absorbe, se distribuye y se excreta directamente. La velocidad a que se absorbe el plomo depende de su forma química y física y de las características fisiológicas de la persona expuesta (edad y estado nutricional). El plomo inhalado y depositado en las vías respiratorias bajas se

absorbe por completo. La cantidad de plomo absorbida en el tracto gastrointestinal de los adultos suele estar comprendida entre el 10 y el 15% de la cantidad ingerida; en los niños y las mujeres embarazadas, la cantidad absorbida puede aumentar hasta en un 50%. También se incrementa significativamente en condiciones de ayuno y en casos de déficit de hierro o calcio. Una vez en la sangre, el plomo se distribuye en tres compartimentos: la sangre, los tejidos blandos (riñón, médula ósea, hígado y cerebro) y el tejido mineralizado (huesos y dientes). El tejido mineralizado contiene aproximadamente el 95% de la carga corporal total de plomo en los adultos (ATSDR, 2021; Mahish et al., 2019). Como un elemento no esencial en el metabolismo de las plantas, la toxicidad del plomo está relacionada con procesos fisiológicos, en los cuales se interfiere con el funcionamiento normal desde células hasta órganos; incluyendo la germinación de semillas, retardo en el crecimiento, deficiencia de agua, desordenes nutricionales y reducción de la fotosíntesis (Hong et al., 2020).

6.5.2 Cromo

La aplicación más importante del cromo puro es el cromado de una gran variedad de equipos, como piezas de automóvil y equipos eléctricos. También es ampliamente utilizado en aleaciones con hierro y níquel para formar acero inoxidable, y con níquel, titanio, niobio, cobalto, cobre y otros metales para formar aleaciones con fines específicos. El cromo forma diversos compuestos en distintos estados de oxidación. Los más importantes son los estados de valencia II (cromosos), III (crómicos) y VI (cromatos). El estado II es básico, el III es anfótero y el VI es ácido. En las aplicaciones comerciales se utilizan principalmente compuestos de cromo en estado VI y, en algunos casos, en estado III. El estado cromoso (CrII) es inestable y se oxida rápidamente al estado crómico (CrIII). Esta inestabilidad limita el uso de los compuestos cromosos. Los compuestos crómicos son muy estables y forman muchos otros compuestos con aplicaciones comerciales; los principales son: el óxido crómico y el sulfato básico de cromo. El cromo en estado de oxidación +6 (CrVI) es el de mayor aplicación industrial por sus propiedades ácidas y oxidantes, y su capacidad para formar sales muy coloreadas e insolubles. Los compuestos hexavalentes de cromo (CrVI) más importantes son: el dicromato sódico, el dicromato potásico y el trióxido de cromo. La mayoría de los demás compuestos de cromatos se producen industrialmente utilizando dicromato como fuente de CrVI (ATSDR, 2021; IARC, 1990).

Los compuestos con cromo en estado de oxidación CrIII son considerablemente menos peligrosos que los compuestos de CrVI. Los compuestos de CrIII no se absorben fácilmente en el aparato digestivo y pueden combinarse con proteínas de las capas superficiales de la piel, formando complejos estables. En ausencia de una sensibilización previa con compuestos de CrVI, los compuestos de CrIII no producen ulceraciones ni suelen producir dermatitis alérgicas (Langard, 1982; Melnikov y de Freitas, 2011).

Los compuestos de cromo en estado de oxidación CrVI se absorben rápidamente después de la ingestión o la inhalación. La captación a través de la piel intacta es menos conocida. Los efectos irritantes y corrosivos del CrVI se producen inmediatamente después de la absorción a través de la mucosa, que es muy rápida. La exposición profesional a los compuestos de CrVI puede producir irritación o corrosión cutáneo-mucosa, reacciones cutáneas de tipo alérgico o ulceraciones de la piel. Los efectos nocivos de los compuestos de cromo se observan generalmente entre las personas que trabajan en lugares donde está presente el CrVI, especialmente durante su fabricación o utilización, y afectan principalmente a la piel y al aparato respiratorio. Los riesgos industriales típicos son: la inhalación de polvo y humos procedentes de la fabricación del dicromato a partir del mineral de cromita y de la fabricación de los cromatos de plomo y zinc; la inhalación de nieblas de ácido crómico durante el cromado o el revestimiento de superficies metálicas; y el contacto cutáneo con compuestos de CrVI durante su fabricación o uso. La exposición a humos que contienen CrVI también puede producirse durante la soldadura del acero inoxidable. En un gran número de estudios realizados en Francia, Alemania, Italia, Japón, Noruega, Estados Unidos y el Reino Unido se ha descrito un aumento de la incidencia de cáncer de pulmón entre los trabajadores empleados en la fabricación y el uso de compuestos de CrVI. Los cromatos de zinc y calcio parecen ser los más cancerígenos y se cuentan entre los cancerígenos más potentes en humanos (Langard, 1982; 1990; Hong et al., 2020).

6.5.3 Cobalto

El cobalto es considerado un metal esencial y se ha convertido en un contaminante emergente en medio ambientes costeros. La toxicidad del cobalto se observa por el bloqueo de canales de calcio, citotoxicidad y genotoxicidad. Se ha reportado que el Co causa efectos tóxicos en microalgas lo cual puede producir efectos adversos indirectos en rotíferos según Karthikeyan et al. (2019).

6.5.4 Magnesio

Es un metal considerado como micronutriente del cual se han reportado parámetros tóxicos muy limitados en zooplancton (Enesco y Holtzman, 1980). El Mg es el metal más ligero que se conoce y se utiliza principalmente en forma de aleación para componentes de aviones, barcos, automóviles y herramientas de mano que requieren resistencia y ligereza simultáneamente; también se utiliza en la fabricación de instrumentos de precisión y espejos ópticos y en la recuperación del titanio, además se emplea en el sector militar y en pirotecnia (Erlinder, 1994).

El magnesio es el cuarto catión más abundante en el cuerpo humano, después del Ca, Na y K, siendo que se contiene en promedio 25g de Mg en el cuerpo; es un componente esencial de la clorofila por lo cual las necesidades del organismo quedan satisfechas con el consumo de vegetales verdes (Erlinder, 1994). Se considera de toxicidad baja, los compuestos más utilizados es la magnesita y la dolomita que pueden irritar el aparato respiratorio (Akinfieva et al., 1992).

7. METODOLOGÍA

La cepa de *E. dilatata* fue obtenida de un estanque del jardín botánico de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Los rotíferos fueron cultivados en medio EPA; 96 mg NaHCO₃, 60 mg CaSO₄·2H₂O, 60 mg MgSO₄ y 4 mg KCl por litro de agua ionizada (USEPA, 2002) con pH de 7.5. El alimento fue con la microalga *Nannochloropsis oculata*, cepa LB2164 de UTEX, Colección de cultivos de alga de la Universidad de Texas en Austin, crecida en medio Bold (Nichols, 1973).

7.1 Prueba de toxicidad letal.

Se tomó como base la guía estándar para pruebas toxicológicas agudas con el rotífero *Brachionus* (ASTM, 1998) y la prueba de toxicidad aguda de 24 horas con rotíferos (Rotokit F) con modificaciones, para establecer el procedimiento de experimentación.

Se colocaron huevos de *Euchlanis dilatata* 24 hrs. antes en medio de cultivo, una vez obtenidos los neonatos del rotífero se procedió a colocar 10 individuos de *E. dilatata* en 6 diferentes pocillos, siendo cada pocillo una concentración diferente de exposición a cada metal (Pb, Co, Cr y Mg). Se emplearon soluciones estándar de absorción atómica de Sigma diluido en ácido nítrico concentrado (5%) con medio EPA.

Se realizaron para cada tratamiento cinco réplicas. La exposición se llevó a cabo en una cámara bioclimática a 25 ± 2 °C con periodo de luz-oscuridad de 16:8 hrs. Después de 24 hrs. de periodo de exposición se contaron los organismos muertos en cada tratamiento.

7.2 Prueba de toxicidad subletal por inhibición del crecimiento poblacional.

Tomando como referencia el proceso experimental de Hernández-Flores y Rico-Martínez (2006); se tomaron organismos neonatos, menores a 24 horas, de *Euchlanis dilatata*. debido a que son preferibles para las pruebas de toxicidad en virtud de su alta sensibilidad.

Se colocaron 5 organismos vivos en cada pocillo a diferentes concentraciones del metal (Pb, Co, Cr y Mg) alimentándose *ad libitum* con microalga (*N. oculata*) estandarizada a 1×10^6 cel / 2 mL mediante conteo en cámara de Neubauer.

Se completó un volumen final de 2000 μ L, considerando 30-50 μ L de la gota que contiene al zooplancton, la cantidad del metal requerida según la concentración del tóxico establecida, el alimento y completó con medio EPA; se elaboraron 5 réplicas del ensayo. La exposición se realizó en cámara bioclimática a 25 ± 2 °C con un periodo de luz:oscuridad de 16:8 horas durante 5 días.

Al finalizar la exposición de 48 horas se realizó el conteo de los organismos totales en cada pozo para calcular el valor de la tasa instantánea de crecimiento (r) mediante la fórmula:

$$r = Ln * \left[\frac{dt - d0}{t} \right]$$

Donde:

Ln: Logaritmo natural

dt: Densidad total (número de organismos encontrados después de 48 horas)

d0: Densidad al tiempo "0" (número de organismos colocados al inicio del ensayo, 5)

t: tiempo de exposición (48 horas)

7.3 Bioconcentración

Siguiendo el procedimiento realizado por Hernández-Flores et al. (2020) para el cálculo del factor de bioconcentración de los metales, comenzamos de un cultivo de 1000 rotíferos en 15 ml de medio EPA expuestos a una concentración no letal del metal a medir (LOEC).

El cultivo se colocó en cámara bioclimática a 25 ± 2 °C periodo de luz:oscuridad de 16:8 h con un tiempo de exposición de 24 h. De cada tratamiento se realizaron tres replicas.

Una vez concluido el periodo de exposición se procedió a filtrar el medio para lograr separar el extracto con el metal en el medio, es decir que no fue ingerido por los rotíferos, y otro extracto con los rotíferos en un medio limpio. Preservamos los extractos con 10 μ L de ácido nítrico al 100%.

Se leyeron cada uno de los extractos en un espectro de absorción atómica, añadiendo el stock de 10 μ L/L del metal con el cual se preparó el medio de exposición en las etapas anteriores. Se obtuvieron las tres lecturas del metal en cada extracto, para realizar el cálculo del factor de bioconcentración mediante la siguiente fórmula:

$$q = (C_0 - C_t) V/W$$

Donde:

q: Factor de Bioconcentración

C₀: Concentración inicial del metal (Medición real en el stock)

C_t: Concentración del metal en el extracto (Medición en el medio filtrado)

V: Volumen (15 ml)

W: Peso seco de rotíferos expuestos al metal (1.31 mg por rotífero en el medio, 1000 rotíferos)

8. RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos en las pruebas letales con el rotífero *Euchlanis dilatata* expuesto a los metales: Co, Cr, Mg y Pb. Los valores letales obtenidos muestran una sensibilidad importante de *E. dilatata* en su exposición aguda a los cuatro metales. Se determinó una CL₅₀ de 0.162 para el Pb, 0.057 para el Cr, 0.072 para el Co y 0.398 mg/L para el Mg (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados cuantificados en las pruebas letales para Pb, Cr, Co y Mg, n=5.

METAL	NOEC (mg/L)	CL ₁₀ (mg/L)	LOEC (mg/L)	CL ₅₀ (mg/L)	r ²	CV (%)
Pb	0.02	0.044	0.05	0.162	0.88	16.24
Cr	0.01	0.0107	0.02	0.057	0.91	10.35
Co	0.01	0.015	0.05	0.072	0.89	13.19
Mg	0.05	0.08	0.2	0.398	0.82	17.94

NOEC= No observed effect concentration, Concentración máxima en donde no se observa un efecto diferente al control. CL₁₀= Concentración letal en donde mueren 10% de los organismos de prueba. LOEC= Lowest observed effect concentration, Concentración mínima en la que se observa un efecto diferente al control. CL₅₀= Concentración letal media en donde mueren 50% de los organismos de prueba. r²= Coeficiente de determinación de la regresión lineal entre las unidades probit y el logaritmo de la concentración del metal respectivo (ver figuras 1-4). CV= Coeficientes de variación en porcentaje para cada prueba de toxicidad.

Para medir los parámetros letales se realizó un análisis estadístico (STATISTICA 10) para convertir la curva de respuesta tóxica del rotífero en su exposición al metal (Pb, Cr, Co y Mg) en una recta que permita interpolar precisamente el cálculo de la concentración letal 50 (Figura 1 – 4).

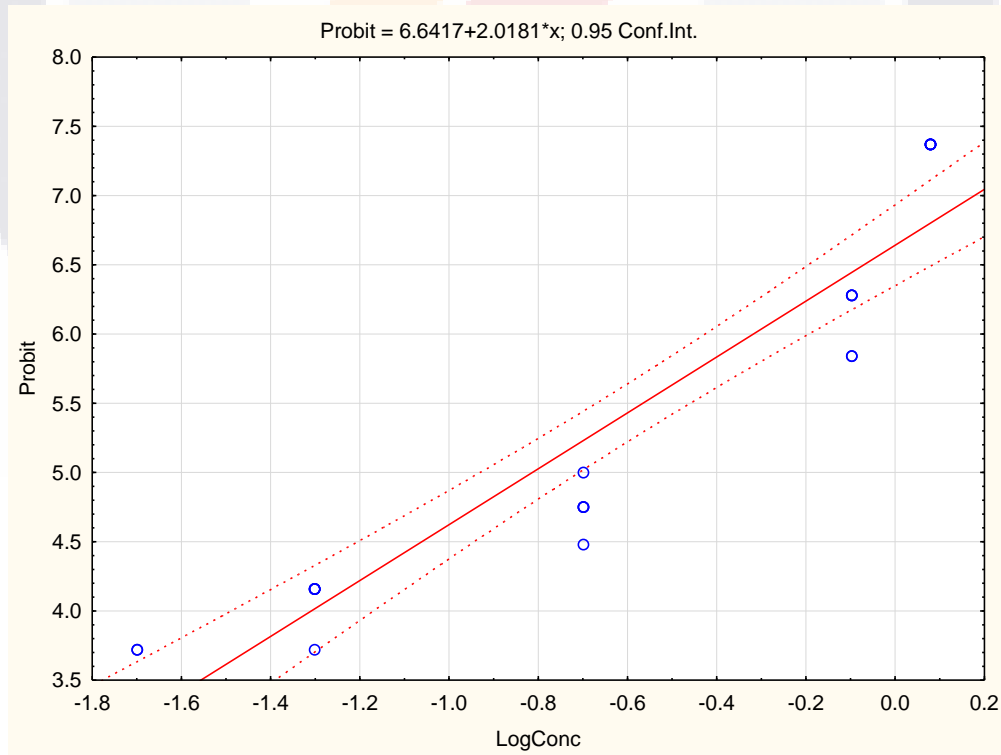


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al plomo.

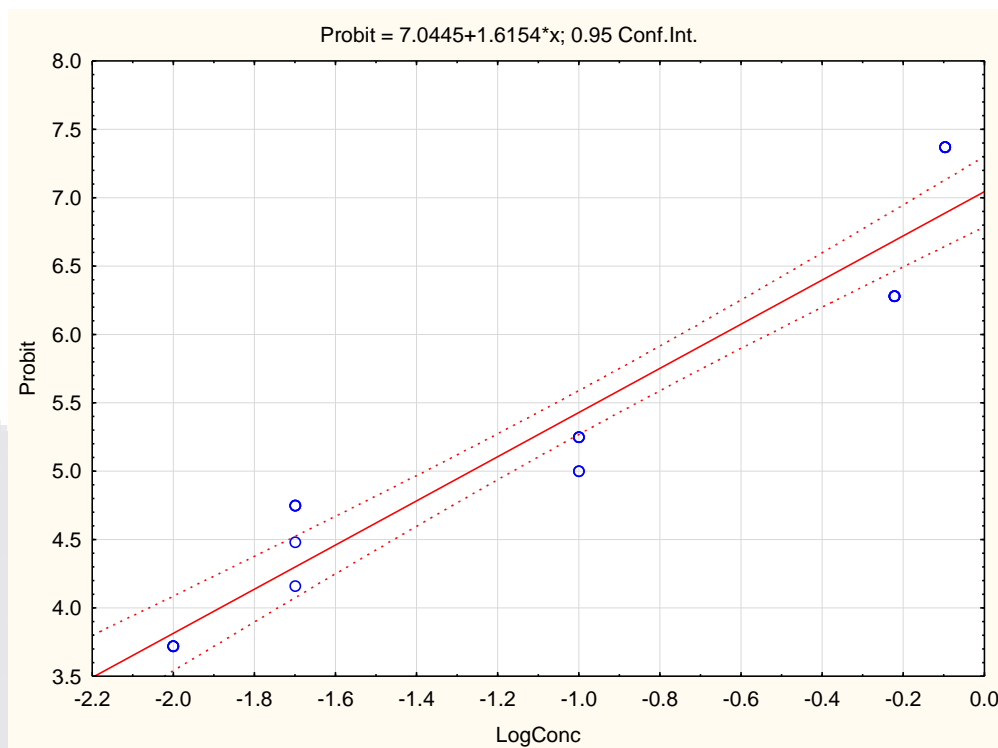


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al cromo.

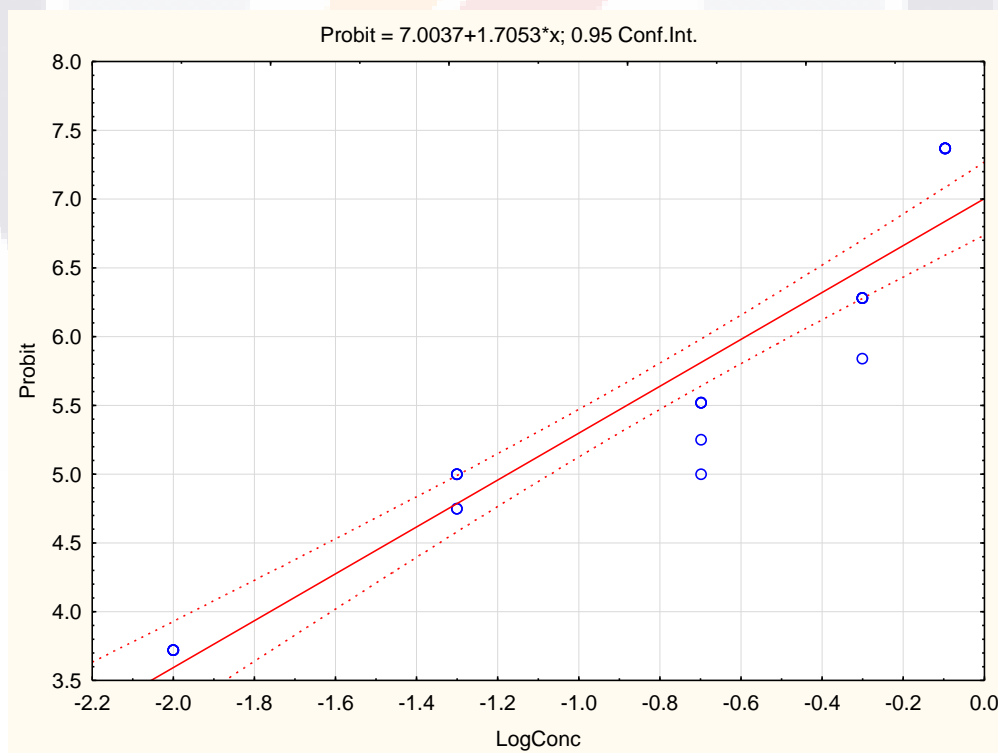


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al cobalto.

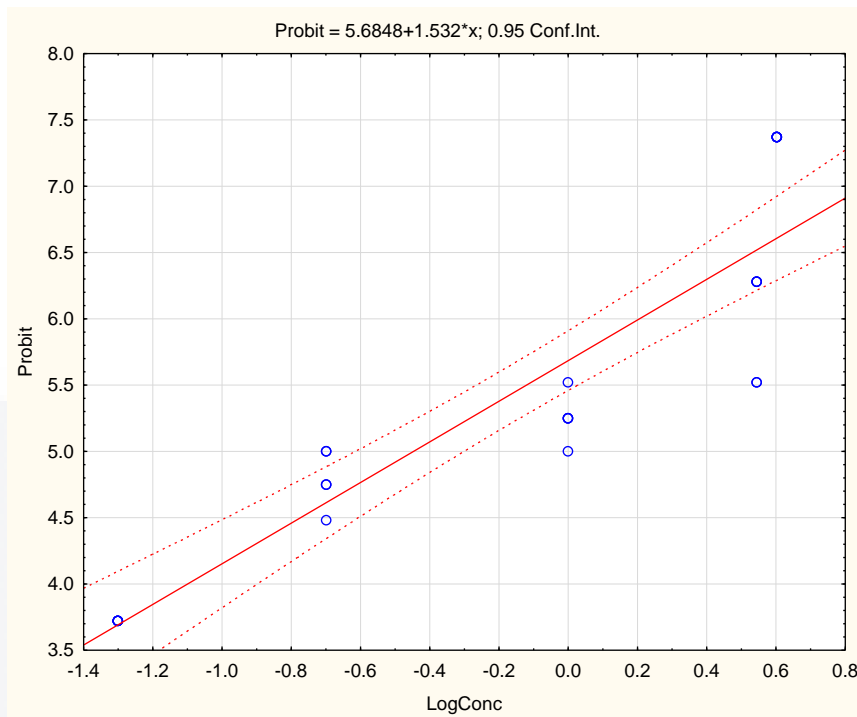


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de *Euchlanis dilatata* en respuesta a su exposición al magnesio.

En la Tabla 2 a la 5 se muestran los resultados de las pruebas subletales de inhibición del crecimiento con el rotífero *Euchlanis dilatata*.

Tabla 2. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Pb, n=5, $\sigma=9.748$.

Concentración Pb ($\mu\text{L/L}$)	Crecimiento poblacional (%)	Tasa intrínseca de crecimiento (r)
0	---	0.98
0.03	- 1.25	0.98
0.04	+ 1.44	0.98
0.05	- 8.27	0.96
0.08	+1.62	0.98
0.16	- 24.28	0.91

Tabla 3. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Cr, n=5, $\sigma=14.647$.

Concentración Cr ($\mu\text{L/L}$)	Crecimiento poblacional (%)	Tasa intrínseca de crecimiento (r)
0	---	1
0.012	- 3.12	0.98
0.015	+ 8.31	1.01
0.02	- 2.49	1
0.03	- 30.14	0.93
0.06	- 25.15	0.94

Tabla 4. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Co, n=5, $\sigma=7.164$.

Concentración Co ($\mu\text{L/L}$)	Crecimiento poblacional (%)	Tasa intrínseca de crecimiento (r)
0	---	1.13
0.014	- 6.57	1.12
0.0175	- 10.83	1.11
0.023	- 3.57	1.12
0.035	+ 1.5	1.13
0.07	- 19.7	1.08

Tabla 5. Resultados cuantificados en la prueba subletal para Mg, n=5, $\sigma=28.781$.

Concentración Mg ($\mu\text{L/L}$)	Crecimiento poblacional (%)	Tasa intrínseca de crecimiento (r)
0	---	0.95
0.08	+ 29.46	1
0.01	+ 81.32	1.07
0.13	+ 78.42	1.07
0.2	+ 113.7	1.1
0.4	+ 101.24	1.09

En la Tabla 6 se muestran los resultados de los experimentos para obtener los factores de bioconcentración con cromo y plomo en el rotífero *Euchlanis dilatata*.

Tabla 6. Resultados cuantificados en la prueba de bioconcentración para Pb y Cr, n=3.

Metal	Conc. Rotíferos (µg/L)	Conc. Stock (µg/L)	Conc. Extracto (µg/L)	FBC (mg/L)
Pb	3.569	9.86	26.56	260.38 ± 3.21
Cr	0.081	9.87	11.34	96.18 ± 2.8

9. DISCUSIÓN

En cantidades pequeñas algunos metales son esenciales para el organismo (Mg, Co y Cr en este estudio) manteniendo las funciones bioquímicas y fisiológicas. Sin embargo, en grandes cantidades pueden producir efectos adversos. A su vez existen metales no esenciales (Pb, en este estudio) a los cuáles no se les han descubierto funciones biológicas y son tóxicos para el organismo en concentraciones mínimas (Alarcón-Corredor, 2009). Consecuentemente realizamos el presente estudio para poder comparar la respuesta de *Euchlanis dilatata* a metales esenciales o no esenciales, la variación en los valores de toxicidad y la respuesta del rotífero a la exposición.

Comparando los valores letales con los publicados en la literatura científica vemos que para el caso del Pb *E. dilatata* muestra sensibilidad en relación a otras especies de zooplancton como *Daphnia Magna* con 1.08 mg/L, (Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018), 1.12 para *Moina macrocopa* (ECOTOX, 2021), 1.34 para *Simocephalus vetulus* (Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018), >4 para *Brachionus calyciflorus* (Snell, 1991) o 4.88 para *Spirostomum ambiguum* (Nalecz-Jawecki, 2004). Siendo únicamente *Macrobrachium lanchesteri* la única especie con mayor sensibilidad al Pb que *E. dilatata* en su exposición letal por 24 h (Tabla 7).

Tabla 7. Comparación de CL₅₀ de *Euchlanis dilatata* en su exposición al Pb (24 h) con otros estudios.

CL₅₀ (mg/L)	ESPECIE	REFERENCIA
0.0859	<i>Macrobrachium lanchesteri</i>	ECOTOX, 2021
0.162	<i>Euchlanis dilatata</i>	Presente estudio
0.78	<i>Austropotamobius pallipes</i>	ECOTOX, 2021
0.823	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	ECOTOX, 2021
1.08	<i>Daphnia magna</i>	Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018

1.09	<i>Daphnia dúplex</i>	Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018
1.12	<i>Moina macrocopa</i>	ECOTOX, 2021
1.34	<i>Simocephalus vetulus</i>	Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018
1.5	<i>Daphnia pulex</i>	ECOTOX, 2021
>4	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Snell, 1991
4.88	<i>Spirostomum ambiguum</i>	Nalecz-Jawecki, 2004
4.89	<i>Daphnia magna</i>	ECOTOX, 2021
6.58	<i>Stenocypris major</i>	ECOTOX, 2021

El Cr es un metal ampliamente estudiado en zooplancton, por tanto, que los valores de CL₅₀ (24 h) pueden ser diferentes y variados. Los valores letales mínimos reportados son de 0.015 mg/L para *Simocephalus vetulus* (Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018) hasta 206 para *Tanytarsus dissimilis* (ECOTOX, 2021). Nalecz-Jawecki y Sawichi (1998) reportaron una CL₅₀ de 0.1 para *Daphnia magna*, Santos-Medrano y Rico-Martínez (2018) de 1.43 para *Daphnia pulex*, Sarma et al. (2006) de 9.2 y 17.4 para *Brachionus patulus* y *Brachionus calyciflorus* respectivamente o de 36.2 para *Philodina acuticomis* (ECOTOX, 2021), véase Tabla 8. De igual manera que para el Pb, solo vemos una especie más sensible al Cr que *E. dilatata* en su exposición aguda.

Tabla 8. Comparación de CL₅₀ de *Euchlanis dilatata* en su exposición al Cr (24 h) con otros estudios.

CL ₅₀ (mg/L)	ESPECIE	REFERENCIA
0.015	<i>Simocephalus vetulus</i>	Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018
0.057	<i>Euchlanis dilatata</i>	Presente estudio
0.061	<i>Streptocephalus proboscideu</i>	ECOTOX, 2021
0.1	<i>Daphnia pulex</i>	ECOTOX, 2021
0.1	<i>Daphnia magna</i>	ECOTOX, 2021
0.11	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	ECOTOX, 2021
0.15	<i>Straptocephalus texanus</i>	ECOTOX, 2021
0.152	<i>Spirostomum ambiguum</i>	Nalecz-Jawecki y Sawicki, 1998
0.2	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	ECOTOX, 2021

0.38	<i>Notodiaptomus conifer</i>	ECOTOX, 2021
0.76	<i>Moina macrocopa</i>	ECOTOX, 2021
1.202	<i>Macrobrachium rude</i>	ECOTOX, 2021
1.43	<i>Daphnia pulex</i>	Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018
1.9	<i>Macrobrachium lamarrei</i>	ECOTOX, 2021
3.04	<i>Daphnia magna</i>	Santos-Medrano y Rico-Martínez, 2018
9.2	<i>Brachionus patulus</i>	Sarma et al., 2006
17.4	<i>Brachionus calyciflorus</i>	Sarma et al., 2006
22	<i>Nitocra spinipes</i>	ECOTOX, 2021
27.8	<i>Aedes aegypti</i>	ECOTOX, 2021
28	<i>Philodina roséola</i>	ECOTOX, 2021
36.2	<i>Philodina acuticornis</i>	ECOTOX, 2021
38	<i>Culex quinquefasc</i>	ECOTOX, 2021
48	<i>Callinectes sapidus</i>	ECOTOX, 2021
206	<i>Tanytarsus dissimilis</i>	ECOTOX, 2021

E. dilatata muestra una sensibilidad muy importante al Co en su exposición letal, al considerar una CL₅₀ de 0.072 mg/L vemos que es mucho menor en relación a otras especies reportadas. Siendo más baja en un factor de 29.3 a la de *Daphnia magna* (2.11) que es la especie más sensible anteriormente expuesta (ECOTOX, 2021). Además de considerar valores de hasta 5.8 para *Daphnia magna* (Ding, 1980) y 11.8 para *Spirostomum ambiguum* (Nalecz.Jawecki y Sawicki, 1998), véase Tabla 9. Los estudios de toxicidad del Mg en zooplancton son escasos debido a la falta de relevancia toxicológica del Mg al considerarse un metal esencial, sin embargo, podemos observar, al igual que con el Pb, Cr y Co, que *E. dilatata* muestra una sensibilidad significativa. Se compara la CL₅₀ de 0.398 mg/L del presente estudio con 64.7 para *Gammarus lacustris* (ECOTOX, 2021) en una exposición de 4 d y una LOEC de 29.16 para *Asplanchna brightwelli* (Enesco y Holtzman, 1980) (Tabla 10).

Tabla 9. Comparación de CL₅₀ de *Euchlanis dilatata* en su exposición al Co (24 h) con otros estudios.

CL ₅₀ (mg/L)	ESPECIE	REFERENCIA
0.072	<i>Euchlanis dilatata</i>	Presente estudio
2.11	<i>Daphnia magna</i>	ECOTOX, 2021
2.3472	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	ECOTOX, 2021
4.196	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	ECOTOX, 2021
5.8	<i>Daphnia magna</i>	Ding, 1980
11.8	<i>Spirostomum ambiguum</i>	Nalecz-Jawecki y Sawicki, 1998

Tabla 10. Comparación de parámetros letales de *Euchlanis dilatata* en su exposición al Mg (24 h) con otros estudios.

Parámetro (mg/L)	ESPECIE	REFERENCIA
CL ₅₀ = 0.398 (1 d)	<i>Euchlanis dilatata</i>	Presente estudio
LOEC = 29.16	<i>Asplanchna brightwelli</i>	Enesco y Holtzman, 1980
CL ₅₀ = 64.7 (4 d)	<i>Gammarus lacustris</i>	ECOTOX, 2021

El rotífero *E. dilatata* muestra una sensibilidad mayor que la gran mayoría de otras especies de zooplancton para los cuatro metales (Pb, Cr, Co y Mg), esto puede ser un indicativo de la relevancia ambiental de *Euchlanis dilatata* en un medio natural como un bioindicador de contaminación por metales. El mismo fenómeno se observó en el estudio realizado por Hernández-Flores et al. (2020) en el cual se observa sensibilidad de *E. dilatata* a los metales Cu, Ni y Zn y en menor medida para Fe y Hg en su exposición aguda. Se realizó un ANOVA de una vía entre los CL₁₀ y los CL₅₀ calculados en el presente trabajo, obteniendo los mismos resultados para ambos análisis estadísticos. Las CL₁₀ (p=0.537) y CL₅₀ (p=0.334) de Cr y Co se consideran estadísticamente iguales, mientras que el Pb y Mg son todas diferentes, en base a esto podemos ponderar el grado de toxicidad letal de los metales evaluados de la siguiente manera (Cr=Co) > Pb > Mg, siendo Cr y Co los metales más tóxicos para *E. dilatata* y Mg el menos tóxico. Finalmente se analizaron los parámetros letales obtenidos (CL₅₀) por medio del índice de correlación de Spearman (r_s), donde únicamente se observa una correlación en la respuesta tóxica del rotífero entre el Mg y el

Co (0.948). Inicialmente se esperaba que el Co y el Mg fueran los metales menos tóxicos. Aunque vemos que la toxicidad no es la esperada, la respuesta tóxica sí lo es.

Tabla 11. Comparación del Factor de Bioconcentración (FBC) de *Euchlanis dilatata* en su exposición al Pb con otros estudios.

FBC (mg/L)	ESPECIE	EXPOSICIÓN (días)	REFERENCIA
0.0031	<i>Daphnia magna</i>	14	ECOTOX, 2021
0.0244	<i>Daphnia magna</i>	7	ECOTOX, 2021
0.0486	<i>Hyalella azteca</i>	4	ECOTOX, 2021
0.1	<i>Daphnia similis</i>	1	ECOTOX, 2021
0.2	<i>Trichodactylus fluviatilis</i>	7	ECOTOX, 2021
0.2	<i>Trichodactylus fluviatilis</i>	14	ECOTOX, 2021
0.5	<i>Gammarus pulex</i>	7	ECOTOX, 2021
1.16	<i>Stenocypris major</i>	4	ECOTOX, 2021
16.84	<i>Procambarus clarkii</i>	84	ECOTOX, 2021
260.38	<i>Euchlanis dilatata</i>	1	Presente estudio

Los resultados obtenidos en las pruebas crónicas de inhibición del crecimiento mediante el cálculo de la tasa intrínseca de crecimiento (r) muestran que *E. dilatata* no es sensible a ninguno de los cuatro metales evaluados, Pb, Cr, Co y Mg (Tabla 2 - 5). Para poder calcular la CE_{50} es necesario alcanzar la inhibición subletal del 50% del crecimiento poblacional del rotífero, pero en nuestro caso en ninguna de las cuatro pruebas subletales se alcanza el porcentaje de inhibición del crecimiento, sin llegar a una exposición letal. En los cuatro casos alcanzamos la exposición letal (CL_{50} , previamente determinadas) y apenas llegamos a porcentajes de inhibición del 24.28 (Pb), 25.15 (Cr) y 19.7% (Co), mientras que el Mg produce un incremento en la población (101.24%) en su exposición letal (ver Tabla 2 - 5), resultado congruente a que el Mg es un metal esencial para algunas funciones biológicas en los rotíferos (Enesco y Holtzman, 1980). Dou et al. (2013) mencionan que metales como Cu, Fe y Zn, que son esenciales, generan una producción de lípidos en *N. oculata*. Consecuentemente las microalgas pueden absorber una gran cantidad de iones metálicos contribuyendo al crecimiento de *E. dilatata* por la presencia a una gran cantidad de lípidos

contenidos en la comida, mejorando la resistencia a los metales en la ingesta de microalgas (Hernández-Flores et al., 2020; Jeon et al., 2010).

Tabla 12. Comparación del Factor de Bioconcentración (FBC) de *Euchlanis dilatata* en su exposición al Cr con otros estudios.

FBC (mg/L)	ESPECIE	EXPOSICIÓN (días)	REFERENCIA
0.0005	<i>Eudiaptomus padanus</i>	0.5	ECOTOX, 2021
0.0005	<i>Cyclops abyssorum</i>	0.5	ECOTOX, 2021
0.0005	<i>Daphnia hialina</i>	0.5	ECOTOX, 2021
0.16	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7	ECOTOX, 2021
3.3	<i>Zilchiopsis collastinensis</i>	14	ECOTOX, 2021
4.9	<i>Zilchiopsis collastinensis</i>	7	ECOTOX, 2021
7.7	<i>Zilchiopsis collastinensis</i>	1	ECOTOX, 2021
96.18	<i>Euchlanis dilatata</i>	1	Presente estudio

Hernández-Flores et al. (2020) sugieren que existe un mecanismo en *E. dilatata* en el cual la toxicidad de los metales inhibe la tasa de ingestión, pero no afecta significativamente la tasa de reproducción, proponiendo que el rotífero es capaz de mitigar los efectos adversos en su reproducción al elegir las partículas de alga menos intoxicadas durante los cinco días de duración de las pruebas crónicas. Luego los efectos letales alteran la tasa de reproducción (Clement et al, 1980; Gilbert y Starkweather, 1977; Hernández-Flores et al, 2020).

Cuando el metal entra en organismos acuáticos puede ser usado como un metal esencial en el metabolismo, excretado y almacenado en el cuerpo o puede unirse a una enzima o proteína en sitios desactivados, alterando su actividad y causando un efecto tóxico (Viarengo, 1985; Rainbow, 2002). Por lo que se propone evaluar los efectos subletales de los metales en *E. dilatata* por medio de pruebas de actividad enzimática.

La problemática de los metales en el ambiente se debe a su persistencia, a que no son biodegradables y pueden ser bioconcentrados y biomagnificados al entrar en la cadena trófica (Mohammad et al., 2011). En la Tabla 6 se pueden observar el FBC para Pb (260.38 mg/L) y para el Cr (96.18 mg/L) calculados en el presente trabajo; consultando la base de

datos de ECOTOX (2021) podemos comparar dichos FBC con otros reportados para otras especies de zooplancton como *Daphnia similis* de 0.01 (1 d de exposición), *Stenocypris major* de 1.16 (4 d), *Hyallolella azteca* de 0.0486 (4 d), *Gammarus pulex* de 0.5 (7 d) o *Procambarus clarkii* de 16.84 (84 d), véase Tabla 11. En el caso del Cr podemos consultar en la Tabla 12 valores del FBC para *Daphnia hialina* de 0.0005 (0.5 d), *Zilchiopsis collastinensis* de 7.7 y 3.3 (1 y 14 d respectivamente) o *Ceriodaphnia dubia* de 0.16 (7 d) (ECOTOX, 2021).

La Comisión Europea (1996) menciona que FBC > 100 pueden considerarse como posiblemente peligroso. Por lo que la bioconcentración de Cr en *E. dilatata* se puede considerar dentro de un rango normal, mientras que para el Pb existe un riesgo ambiental al tener un FBC más alto que el mencionado por la Comisión Europea en un factor de 2.

10. CONCLUSIÓN

Euchlanis dilatata es un organismo con potencial para considerarse como un bioindicador de contaminación por metales en un ecosistema acuático debido a los bajos valores de CL₅₀ que se obtuvieron en las pruebas letales, de dicha manera *E. dilatata* será de los primeros organismos que responderán a la presencia de metales en el medio, ayudando a revelar en etapas tempranas la contaminación y poder realizar acciones que puedan causar efectos más peligrosos en el agua. Las pruebas subletales de inhibición del crecimiento demostraron no generar efectos tóxicos relevantes en *E. dilatata* al no lograr inhibir el 50% de la reproducción del rotífero al exponerlo a concentraciones crónicas. Se propone realizar pruebas crónicas de inhibición de actividad enzimáticas para futuros análisis, esperando encontrar efectos tóxicos subletales de los metales en el rotífero. La bioconcentración del Pb en *E. dilatata* puede considerarse peligrosa ya que puede llegar a integrar al contaminante en la cadena trófica, mientras que para el Cr se considera de bajo riesgo ambiental.

Se logró cumplir con los objetivos planteados al inicio del proyecto al cuantificar y comparar los parámetros letales de *E. dilatata* en su exposición al Pb, Cr, Co y Mg. No se cuantificó la CE₅₀ debido a que no es de relevancia científica, para este caso de estudio, al no observar efectos tóxicos subletales en las pruebas crónicas, la tasa intrínseca de crecimiento fue calculada pero no mostró diferencia significativa. A pesar de ello si se considera logrado el objetivo de obtener parámetros subletales para los cuatro metales al demostrar la

resistencia del rotífero en dicha prueba crónica, generando información importante sobre la respuesta tóxica del organismo a los metales analizados. Finalmente se calculó el factor de bioconcentración para Pb y Cr y se compararon los resultados con otros reportados, cumpliendo con el objetivo.

11. GLOSARIO

Bioacumulación: Término general que describe el proceso por el cual los químicos son captados por los organismos.

Bioconcentración: Proceso en el que hay acumulación neta de un químico en un organismo. Esto es resultado de procesos simultáneos de acumulación y eliminación.

Biodisponibilidad: Fracción de una sustancia disponible para un organismo.

Biomagnificación: Cuando la concentración de una sustancia aumenta con cada nivel de la cadena trófica.

Biomarcador: Es aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico.

Biorremediación: Consiste en el uso de organismos vivos, fundamentalmente bacterias, pero también hongos, levaduras y plantas, para la eliminación de contaminantes ambientales.

Cadena trófica: Esquema en el que aparecen representadas las relaciones lineales existentes entre las especies de organismos consumidos y consumidores.

Ciclos biogeoquímicos: Es el movimiento cíclico de los elementos que forman los organismos biológicos (bio) y el entorno geológico (geo) y un cambio químico que interviene.

Ciclos biológicos: Serie de fases o estadios que atraviesa un ser vivo a lo largo de su vida.

Componentes abióticos: Son los integrantes físicos y químicos no vivos en el ecosistema.

Componentes bióticos: Son los integrantes vivos de un ecosistema.

Disruptor endocrino: Es una sustancia química, ajena al cuerpo humano o a la especie animal a la que afecta, capaz de alterar el equilibrio hormonal de los organismos de una especie.

Ecosistema: Sistema biológico constituido por una comunidad de seres vivos y el medio natural en que viven.

Ecotoxicología: Rama de la ciencia que estudia el destino y los efectos de los contaminantes en los ecosistemas, intentando explicar las causas y prever los riesgos probables.

Exógeno: Que se debe a causas externas.

Factor de bioconcentración: Relación de la concentración de una sustancia en un organismo frente a la concentración de la misma en un medio.

Inmunotoxicidad: Consecuencias nocivas de la acción de los xenobióticos sobre el sistema inmune.

Mesocosmo: Es cualquier sistema experimental al aire libre que examina el entorno natural en condiciones controladas.

Metal: Elementos químicos caracterizados por ser buenos conductores del calor y la electricidad, poseer alta densidad, y ser sólidos a temperaturas normales (excepto el mercurio y el galio).

Microcosmo: Conjunto de los seres y partículas materiales, limitados a interactuar en un reducido espacio en condiciones controladas.

Pesticida: Es cualquier sustancia o mezcla de sustancias dirigidas a destruir, prevenir, repeler, o mitigar alguna plaga.

Respuesta tóxica: Corresponde a cualquier desviación del funcionamiento normal del organismo que ha sido producida por la exposición a sustancias tóxicas.

Rotífero: Son organismos microscópicos, acuáticos y semiacuáticos, más conocido en la limnología por ser componentes del plancton.

Tasa intrínseca de crecimiento: Ritmo de crecimiento exponencial de una población, es decir, la diferencia entre los componentes de los ritmos de nacimientos y muertes, independientes de la densidad de una población natural con una distribución de edad estable.

Toxicidad aguda: Efectos tóxicos observados con una exposición única de corta duración

Toxicidad crónica: Es la propiedad de una sustancia de causar daños a largo plazo. Estos efectos tienen un período de latencia y se manifiestan después de un largo tiempo.

Toxicología ambiental: Área de la ciencia que se ocupa de los efectos de los químicos sobre el ecosistema y la salud.

Toxón: Es un xenobiótico o fármaco con efectos nocivos, tanto dañinos como indeseables.

Xenobiótico: Es una sustancia extraña al individuo la cual lleva procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción; en cada uno de estos pasos experimenta numerosas transformaciones bioquímicas.

Zooplankton: Conjunto de organismos exclusivamente animales que forman parte del plancton.

12. BIBLIOGRAFÍA

Adams, W.; Blust, R.; Dwyer, R.; Mount, D.; Nordheim, E.; Rodriguez, P.H. y Spry, D. (2020). Bioavailability assessment of metals in freshwater environments: A historical review. *Environmental Toxicology and Chemistry* 39:48-59.

Akinfieva, T. A.; Nikolaeva, N. I.; Silaev, A. A.; Gerasimova, I. L. y Makoilkina, E. P. (1992). Magnesium sulfate as an industrial poison. *Gig Tr Prof Zabol* 3:33-5.

Alarcón-Corredor, O. M. (2009). Los elementos traza. *Revista médica de extensión portuguesa-U LA* 4(3): 107-124.

Arias-Almeida, J.C. y Rico-Martínez, R. (2011a). Toxicity of cadmium, lead, mercury and methyl parathion on *Euchlanis dilatata* Ehrenberg 1832 (Rotifera: Monogononta). *Bull Environ Contam Toxicol*, 87:138-142.

Arias-Almeida, J.C. y Rico-Martínez, R. (2011b). Inhibition of two enzyme systems in *Euchlanis dilatata* (Rotifera: Monogononta) as biomarker of effect of metals and pesticides. *Biomarkers*, 16:12–19.

ASTM E729-96. (1998). Standard Guide of Conducting Acute Toxicity Test son Tests Materials with Fishes, Macroinvertebrates, and Amphibians, ASTM International, West Conshohocken, PA.

ATSDR. (2021). Perfil toxicológico del plomo. Atlanta, GA: Agency of Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

ATSDR. (2021). Perfil toxicológico del cromo. Atlanta, GA: Agency of Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.

Cairns, J. J.; Buikema, J. A.; Heath, A.G. et al. (1978). Effects of temperature on aquatic organism sensitivity to selected chemicals. Virginia Water Resources Research Center, Bulletin 106. Virginia.

Clement, P.; Amsellem, J.; Cornillac, A. M.; Luciani, A. y Ricci, C. (1980). An ultrastructural approach to feeding behavior in *Philodina roseola* and *Brachionus calyciflorus* (Rotifers). *Hydrobiologia*. 73:137-141.

Daam, M.A.; Satapornvanit, K.; Van den Brink, P.J. et al. (2010). Direct and indirect effects of the fungicide Carbendazim in tropical freshwater microcosms. *Arch Environ Contam Toxicol*, 58:315–324.

Dahms, H.U.; Hagiwara, A.; Lee, J. S. (2011). Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic studies with rotifers. *Aquat Toxicol*, 101:1–12.

Ding, S. R. (1980). Acute toxicities of vanadium, nickel and cobalt to several species of aquatic organisms. *Environ, Qual*. 1:17-21.

Dobbs, M. G.; Cherry, D.S.; Cairns, J. J. (1996). Toxicity and bioaccumulation of selenium to a three trophic level food chain. *Environ Toxicol Chem*, 15:340–347.

Dou, X.; Lu, X. H.; Lu, M. Z.; Yu, L. S.; Xue, R. y Ji, J B. (2013). The effects of trace elements on the lipid productivity and fatty acid composition of *Nannochloropsis oculata*. *J Renew Energy* 1-6.

Enesco, H. y Holtzman, F. (1980). Effects of calcium, magnesium and chelating agents on the lifespan of the rotifer *Asplanchna brightwelli*. *Experimental Gerontology* 15: 389-392.

Erlinder, P. (1994). The possible role of gradual accumulation of copper, cadmium, lead and iron and gradual depletion of zinc, magnesium, selenium, vitamins B5, B6, D and E and essential fatty acids in multiple sclerosis. *Medical Hypotheses* 55:239-241.

European Commission (1996). Expanded scheme for harmonization of transport and supply and use classification schemes for dangers to the aquatic environment proposed by European Commission, Directorate-General XI. Brussels.

Gilbert, J. J. y Starkweather, P.L. (1977). Feeding in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Oecologia* 28:125-131.

González, M. J. y Frost, T. M. (1994). Comparisons of laboratory bioassays and a whole-lake experiment: rotifer responses to experimental acidification. *Ecol Appl*, 4:69–80.

Hanazato, T. (2001). Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environ Pollut*, 112:1–20.

Hanazato, T. y Kasai, F. (1995). Effects of the organophosphorus insecticide fenthion on phyto and zooplankton communities in experimental ponds. *Environ Pollut*, 88:293–298.

Havens, K. E. (1992). Acidification effects on the zooplankton size spectrum: an in situ mesocosm experiment. *J Plankton Res*, 14:1687–1696.

Hernández-Flores, S. y Rico-Martínez, R. (2006). Study of the effects of Pb en Hg toxicity using a chronic toxicity reproductive 5-days test with the freshwater rotifer *Lecane quadridentata*. *Environ Toxicol* 21(5):533-540.

Hernández-Flores, S.; Santos-Medrano, G. E.; Rubio-Franchini, I. y Rico-Martínez, R. (2020). Evaluation of bioconcentration and toxicity of five metals in the freshwater rotifer *Euchlanis dilatata* Ehrenberg, 1832. *Environ Sci Pollut Res*.

Hernández-Ruiz, E.; Alvarado-Flores, J.; Rubio-Franchini, I.; Ventura-Juárez, J.; Rico-Martínez, R. (2016). Adverse effects and bioconcentration of chromium in two freshwater rotifer species. *Chemosphere*, 158:107-115.

Hong, Y.; Liao, W.; Yan, Z.; Bai, Y.; Feng, C.; Xu, Z. y Xu, D. (2020). Progress in the research of the toxicity effect mechanism of heavy metal on freshwater organisms and their water quality criteria in China. *Journal of chemistry*. 12 pp.

Hong-Wen, S.; Shu-Gui, D.; Guo-Lan, H. (2001). Bioaccumulation of butyltins via an estuarine food chain. *Water Air Soil Pollut*, 125:5–68.

IARC. (1990). Chromium, nickel and welding. IARC. *Monogr Eval Carcing Risks Hum* 49: 1-648 PMID:2232124.

Isidori, M.; Lavorgna, M.; Nardelli, A. et al. (2003). Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills: a multispecies approach. *Chemosphere*, 52:85–94.

Jeon, J.; Sung Ra, J.; Lee, S.H.; Lee, M. J.; Yu, S. H. y Kim, S. D. (2010). Role of food and clay particles in toxicity of cooper and diazinon using *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 73:400-6.

Joaquim-Justo, C.; Gosselain, V.; Descy, J. P. et al. (1995). Relative importance of the trophic and direct pathways on PCB contamination in the rotifer species *Brachionus calyciflorus* (Pallas). *Hydrobiologia*, 313(314):249–257.

José de Paggi, S.B. y Devercelli, M. (2010). Land use and basin characteristics determine the composition and abundance of the microzooplankton. *Water Air Soil Pollut*. doi:10.1007/s11270-0100626-3

Karthikeyan, P.; Marigoudar, S. R.; Avula, N. y Sharma, K. V. (2019). Toxicity assessment of cobalt and selenium on marine diatoms and copepods. *Env Chem and Ecotox* 1:36-42.

Koteswari, Y. N.; Ramanibai, R. (2004). Evaluation of toxicity of tannery effluent on plankton community structure: a multispecies microcosm study II. *Turk J Biol*, 28:55–63.

Kreutzweiser, D. P.; Back, R.C.; Sutton, T. M. et al. (2002). Community-level disruptions among zooplankton of pond mesocosms treated with a neem (azadirachtin) insecticide. *Aquat Toxicol*, 56:257–273.

Langard, S. (1982). Absorption, transport and excretion of chromium in man and animals. *Biological and environmental aspects of chromium*. Elsevier Biomedical Press. 149-169.

Langard, S. (1990). One hundred years of chromium and cáncer: A review of epidemiological evidence and selected case reports. *Am J Ind Med* 17:189-215.

Magesky, A. y Pelletier, E. (2018). Molecular stress responses against trace metal contamination in aquatic invertebrates. *Heats Shock Proteins ens Stress, Heat Shock Proteins* 15. Chapter 11:193-265.

Mahish, P. K.; Tiwari, K.L. y Jadhav, S.K. (2019). Lead toxicity, measurement and control. *New Bio World* 1(2):1-8.

McDaniel, M. y Snell, T. W. (1999). Probability distributions of toxicant sensitivity for freshwater rotifer species. *Environ Toxicol*, 14:361–366.

Melnikov, P.; de Freitas, T.C.M. (2011). Evaluation of acute chromium (III) toxicity in relation to *Daphnia similis*. *Journal of Water Resource and Protection* 3:127-130.

Mohammad, S. K.; Kapri, A. y Goel R. (2011) Heavy metal pollution: source, impact and remedies. In: Khan, M. Zaidi, A. Goel, R. y Musarrat J. (eds) *Biomangement of metal-contaminated soils*, pp-1-28.

Monteiro, M. T.; Oliveira, R.; Vale, C. (1995). Metal stress on the plankton communities of Sado river (Portugal). *Water Res*, 29:695–701.

Nalecz-Jawecki, G. (2004). Spirotox – *Spirostomum ambiguum* Acute toxicity test – 10 years of experience. *Environmental Toxicology* 19:359-364.

Nalecz-Jawecki, G. y Sawicki, J. (1998). Toxicity of inorganic compounds in the spirotox: a miniaturized versión of the *Spirostomum ambiguum* test. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34 (1): 1-5.

Newman, M. C. (2015). *Fundamentals or Ecotoxicology, the science of pollution*. Taylor & Francis Group. 4th edition. E.U.A. 633 pp.

Nichols, H.W. (1973). Growth media freshwater. In: Stein, J.R. (ed). *Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements*. University Press, Cambridge.

NMX-AA-087-1995-SCFI, Norma Oficial Mexicana, Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, Diario Oficial de la Federación, 30 de junio de 1995.

NMX-AA-110-1995-SCFI, Norma Oficial Mexicana, Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, Diario Oficial de la Federación, 30 de junio de 1995.

NMX-AA-112-1995-SCFI, Norma Oficial Mexicana, Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, Diario Oficial de la Federación, 30 de junio de 1995.

Norwood, W.P.; Borgmann, U. y Dixon, D.G. (2013). An effects addition model base don bioaccumulation of metals from exposure to mixtures of metals con predict chronic mortality in the aquatic invertebrate *Hyaella azteca*. *Environ Toxicol Chem* 32(7):1672-1681.

Park, G. S.; Chung, C.S.; Lee, S. H. et al. (2005). Ecotoxicological evaluation of sewage sludge using bioluminescent marine bacteria and rotifer. *Ocean Sci J*, 40:91–100.

Pérez-Legaspi, I. A.; Rico-Martínez, R. (2001). Acute toxicity tests on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta). *Hydrobiologia*, 446(447):375–381.

Rainbow, P.S. (2002). Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environ Pollut*. 120:497-507.

Rico-Martínez, R. y Martínez-Jerónimo, F. (2000a). Toxicología ambiental. Capítulo 6, Ecotoxicología general. Universidad Autónoma de Aguascalientes.145-171.

Rico-Martínez, R.; Martínez-Jerónimo, F. (2000b). Toxicología ambiental. Capítulo 7, Ecotoxicología acuática. Universidad Autónoma de Aguascalientes.175-202.

Rico-Martínez, R; Pérez-Legaspi, I. A.; Arias-Almeida, J. C. y Santos-Medrano, G. E. (2013). Rotifers in ecotoxicology. *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology*, Springer, 973-996.

Rico-Martínez, R.; Pérez-Legaspi, I. A.; Quintero-Díaz, G. E. et al. (1998). Effect of copper addition to a laboratory maintained microcosm of Presidente Calles Reservoir, Aguascalientes, Mexico. *Aquat Ecosyst Health*, 1:323–332.

Rotoxkit F. extraído de <http://biotoxicity.com/index.php/microbiotests/rotifer-toxicity-tests/acute-brachionus-calyciflorus>.

Rubio-Franchini, I. y Rico-Martínez, R. (2008). Determination of lead in samples of zooplankton, water, and sediments in a Mexican reservoir: evidence for lead biomagnification?. *Environ Toxicol*, 23:459–465.

Santos-Medrano, G. E.; Ramírez-López, E. M.; Hernández-Flores, S. et al. (2007). Determination of toxicity levels in the San Pedro River watershed, Aguascalientes, Mexico. *J Environ Sci Health A*, 42:1403–1410.

Santoa-Medrano, G. E. y Rico-Martínez, R. (2018). Acute Sensitivity Comparision among *Daphnia magna* Straus, 1820 *Daphnia pulex*, 1860 and *Simocephalus vetulus* Müller, 1776, Exposed to Nine Toxicants. *Turk. J. Fish. & Aquat. Sci.* 19 (7): xxx-xxx.

Sarma, S. S. S.; Trujillo-Hernández, H. E.; Nandini, S. (2003). Population growth of herbivorous rotifers and their predator (*Asplanchna*) on urban wastewaters. *Aquat Ecol*, 37:243–250.

Sarma, S.S.S.; Martínez-Jerónimo, F.; Ramírez-Pérez, T. y Nandini, S.S. (2006). Effect of cadmium and chromium toxicity on the demography and population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus* (Rotifera). *Journal of Environmental Science and Health Part A* 41(4):543-58.

Segers, H. (2008). Global diversity of rotifers (Rotifera) in freshwater. *Hydrobiologia*. 595: 49-59.

Semenovich, S. I. (2002). Interactions: Food, agricultura and environment – Vol 1. Water pollution and its impact on fish and aquatic invertebrates. Encyclopedia of life support systems. EOLSS.

Sugiura, K. (1992). A multispecies laboratory microcosm for screening ecotoxicological impacts of chemicals. *Environ Toxicol Chem*, 11:1217–1226.

Snell, T.W. (1991). Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*. ASTM International, reapproved 1998.

Snell, T. W. y Carmona, M. J. (1995). Comparative toxicant sensitivity of sexual and asexual reproduction in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environ Toxicol Chem*, 14:415–420.

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

Truhaut, R. (1977). Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives. *Ecotox Environ Saf*, 1: 151-173.

United States Environmental Protection Agency (USEPA). (2002). Methods of measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms. EPA-821-R-02-012. Washigton.

U.S. Environmental Protection Agency. (2021). ECOTOX User Guide: ECOTOXicology Knowledgebase System. Version 5.3. Available: <http://www.epa.gov/ecotox/> (note calendar date your retrieval was performed).

Ventura-Juárez, J.; Jarillo-Luna, R. A.; Fuentes-Aguilar, E.; Pineda-Vázquez, A.; Muñoz-Fernández, L.; Madrid-Reyes, J. I.; Campos-Rodríguez, R. (2003). Human amoebic hepatic abscess: in situ interactions between trophozoites, macrophages, neutrophils and T cells. *Parasite Immunol*, 25:503-511.

Versteeg, D. J.; Stanton, D.T.; Pence, M. A. et al. (1997). Effects of surfactants on the rotifer, *Brachionus calyciflorus*, in a chronic toxicity test and in the development of QSARs. *EnvironToxicolChem*, 16:1051–1059.

Versteeg, D. J.; Belanger, S. E.; Carr, G. J. (1999). Understanding single-species and model ecosystem sensitivity: data-based comparison. *Environ Toxicol Chem*, 18:1329–1346.

Viarengo, A. (1985). Biochemical effects of trace metals. *Mar Pollut Bull*. 16(4):153-158.

Wallace, R. L.; Snell, T. W.; Ricci, C. et al. (2006). Rotifera. biology, ecology and systematics. In:Dumont HJF (ed) *Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world*. Kenobi Productions, Ghent, Belgium and Backhuys Publishers, Leiden.

