



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES**

**Centro de Ciencias Básicas**

**Departamento de Química**

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA TOXICIDAD DE CADMIO  
Y PLOMO EN EL ROTÍFERO *Brachionus plicatilis* CEPA ALVARADO**

**Tesis que presenta Mara Sofía Ruiz Esparza De Luna para optar por el grado de Maestría  
en Ciencias: Área de Toxicología**

**Tutor**

**Dr. Roberto Rico Martínez**

**Cotutor**

**Dr. Ignacio Alejandro Pérez Legaspi**

**Integrante del comité tutorial:**

**Dra. Elsa Marcela Ramírez López**

**Aguascalientes, Ags 30 noviembre de 2024**

M. en C. Jorge Martín Alferez Chávez  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

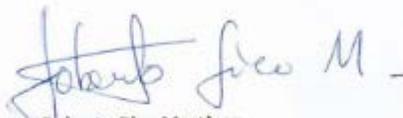
Por medio del presente como COTUTOR designado del estudiante MARA SOFÍA RUIZ ESPARZA DE LUNA con ID 116244 quien realizó LA TESIS titulada: "ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA TOXICIDAD DE CADMIO Y PLOMO EN EL ROTÍFERO *Brachionus plicatilis* CEPA ALVARADO", un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 20 de noviembre de 2024.



**Roberto Rico Martínez**  
Co-Tutor de tesis

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



Instituto Tecnológico de Boca del Río  
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Boca del Río, Ver., **25/Noviembre/2024**

Asunto: Voto aprobatorio Individual

**M. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES  
PRESENTE**

Por medio del presente como **COTUTOR** designado de la estudiante **MARA SOFÍA RUIZ ESPARZA DE LUNA** con **ID 116244** quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA TOXICIDAD DE CADMIO Y PLOMO EN EL ROTÍFERO *Brachionus plicatilis* CEPA ALVARADO**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimir la así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Sin otro particular por el momento, se extiende la presente a los veinte y cinco días del mes de noviembre del 2024.

**ATENTAMENTE**

Excelencia en Educación Tecnológica -  
"Por nuestros mares, responsablemente"

**DR. IGNACIO ALEJANDRO PÉREZ LEGASPI**  
**PROFESOR INVESTIGADOR TITULAR "C", PERFIL PRODEP, SNI NIVEL 1.**  
**JEFE DEL LABORATORIO DE ALIMENTO VIVO**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
**TECNM, INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO**  
**[ignacioperez@bdelrio.tecnm.mx](mailto:ignacioperez@bdelrio.tecnm.mx), [doclegaspi@gmail.com](mailto:doclegaspi@gmail.com)**

ccp. Archivo



Km. 12 Carretera Veracruz-Córdoba, Boca del Río, Ver. C.P. 94290.  
Tel. (229) 690 5010 ext. 1090 [depl\\_bdelrio@tecnm.mx](mailto:depl_bdelrio@tecnm.mx) | [tecnm.mx](http://tecnm.mx) | [bdelrio.tecnm.mx](http://bdelrio.tecnm.mx)





SECRETARÍA TÉCNICA DEL PROGRAMA DE POSGRADO

M. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ  
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

**PRESENTE**

Por medio del presente como **ASESORA** designada de la estudiante **MARA SOFÍA RUIZ ESPARZA DE LUNA** con ID 116244 quien realizó la tesis titulada: **ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA TOXICIDAD DE CADMIO Y PLOMO EN EL ROTÍFERO *Brachionus plicatilis* CEPA ALVARADO**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

**"Se Lumen Proferre"**

Aguascalientes, Ags., a 21 de noviembre de 2024.

Dra. Elsa Marcela Ramírez López  
Asesora 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.

uam.mx / Código: DO-SEE-FO-07  
Emitido: 27/11/19



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación: 21/11/2024

**NOMBRE:** Mara Sofía Ruiz Esparza de Luna **ID:** 118244  
**PROGRAMA:** Maestría en Ciencias Área Biotecnología Vegetal o Toxicología **LGAC (del posgrado):** Toxicología  
**TIPO DE TRABAJO:** (  ) Tesis (  ) Trabajo Práctico

**TÍTULO:** ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA TOXICIDAD DE CADMIO Y PLOMO EN EL ROTIFERO *Brachionus plicatilis* CEPA ALVARADO

**IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):** Se calcularon la  $Cl_{50}$  y  $Pb$  en una salinidad de 10, 15 y 20 unidades prácticas de salinidad (ups). La salinidad que tiene una menor influencia en el efecto tóxico del cadmio es 20 ups mientras que 15 ups y 10 ups no tienen una diferencia significativa entre ellas. En el caso de la toxicidad por plomo la influencia de la salinidad en la toxicidad por plomo se observó que 10 y 20 ups son diferentes a 15 ups pero iguales entre ellas, siendo a 15 ups donde existe una mayor tolerancia al tóxico. En cuanto a las pruebas crónicas se obtuvo que no hubo diferencia significativa entre las medias de las concentraciones utilizadas para el cadmio, ni el plomo.

INDICAR	SI	NO	N.A. (NO APLICA)	SEGÚN CORRESPONDA:
<i>Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:</i>				
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Generó transferencia del conocimiento o tecnológica
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio)
<i>El egresado cumple con lo siguiente:</i>				
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc.)
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo al tutor
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Cuenta con la carta de satisfacción del usuario
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Coincide con el título y objetivo registrado
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Tiene congruencia con cuerpos académicos
SI	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Tiene el CVJ del Conacyt actualizado
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)
<i>En caso de Tesis por artículos científicos publicadas</i>				
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	El estudiante es el primer autor
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
N.A.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	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   
No

**Elaboró:** ROBERTO RICO MARTÍNEZ  
**\* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:** Dr. en C. Arturo Benavito Valdivia Flores  
**NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:** Dr. en C. Elsa Marcela Ramírez López  
**\* En caso de conflicto de intereses, firmar un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembros del comité tutorial, según lo Decano**  
**Revisó:** Dr. ALEJANDRO PADILLA DÍAZ  
**NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:**  
**Autorizó:** M. en C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ  
**NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:**

**Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado**  
 En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las Funciones del Consejo Académico: "... Cobilar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las Funciones del Secretario Técnico, tener el seguimiento de los alumnos.

## **Agradecimientos**

Agradezco a CONAHCYT por la facilitación de la oportunidad de estudiar una maestría en ciencias en toxicología a través de su sistema de becas, yo gocé de la beca 2022-000018-02NACF-02858.

De igual manera agradezco a la Universidad Autónoma de Aguascalientes y al Instituto Tecnológico de Boca del Río así como a mis tutores Roberto Rico Martínez y Dr. Ignacio Alejandro Pérez Legaspi así como a mi comité tutorial la Dra. Elsa Marcela Ramírez López Hubo otras personas que me ayudaron a la realización de este proyecto de tesis gracias a sus consejos e instrucción académica, el Dr Uriel Arreguin Rebolledo y la Dra Ana María Carbajal Hernández

### **Personales**

Agradezco a mi familia sobre todo a mi madre, Ma. del Carmen de Luna Aguilar, quien me apoya siempre, a mi padre, Juan Antonio Ruiz Esparza Cadena, quien nunca me ha dejado de cuidar aunque no esté aquí de forma terrenal, a mi hermane, JP Ruiz Esparza de Luna ya que sin él y su apoyo no hubiera podido tomar la decisión de seguir con mi formación profesional.

También a esas personas que han estado conmigo a través de la realización de esta maestría, escuchando sin juzgar mis problemas y apoyándome, dándome ánimos para no rendirme, esas personas son mi pareja Mireyda Melissa Rocha Camacho y mi amiga Elizabeth Alejandra Aguirre Contreras.

**Dedicatoria**

Dedico la tesis a todas las animalas que tuvieron que ser sacrificadas para la realización de este proyecto.



## ÍNDICE GENERAL

<b>1. Introducción</b>	<b>9</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>10</b>
2.1 Contaminación por metales	10
2.2 El cadmio en el ambiente	12
2.3 El plomo en el ambiente	12
2.4 Metales en la salud	13
2.5 La Laguna de Alvarado	16
2.6 Filo Rotífera	19
2.7 Complejo de especies de <i>Brachionus plicatilis</i>	22
2.8 Estudios de toxicidad con rotíferos	25
2.9 El efecto de la salinidad en la toxicidad por metales	28
<b>3. Justificación</b>	<b>32</b>
<b>4. Hipótesis</b>	<b>33</b>
<b>5. Objetivos</b>	<b>33</b>
5.1 Objetivos generales	33
5.2 Objetivos específicos	34
<b>6. Incidencia, impacto social o ambiental esperado</b>	<b>34</b>
<b>7. Metodología</b>	<b>35</b>
7.1 Cepa de alimento	35
7.2 Cultivo de alimento vivo	36
7.3 Cepa utilizada rotífero	39
7.4 Condiciones de cultivo	39
7.5 Pruebas de toxicidad letal	41

7.6	Pruebas de toxicidad crónica.....	41
<b>8</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>42</b>
8.1	Cultivos de alimento.....	42
8.2	Cultivo de rotíferos.....	44
8.3	Pruebas de toxicidad letal.....	45
8.3.1	Resultados de toxicidad aguda para Cd.....	45
8.3.2	Pruebas de toxicidad aguda de cadmio en B. plicatilis en medio salino a 20 ups.....	45
8.3.3	Pruebas de toxicidad aguda de cadmio en B. plicatilis en medio salino a 15 ups.....	47
8.3.4	Pruebas de toxicidad letal para cadmio a 10 ups.....	49
8.3.5	Pruebas de toxicidad aguda de plomo en B. plicatilis en medio salino a 20 ups.....	51
8.3.6	Pruebas de toxicidad aguda de plomo en B. plicatilis en medio salino a 15 ups.....	53
8.3.7	Pruebas de toxicidad aguda de plomo en B. plicatilis en medio salino a 10 ups.....	55
8.3.8	Efecto de la salinidad en la toxicidad por Cd y Pb.....	57
8.3.9	Efecto de la salinidad en la toxicidad por Cd.....	57
8.3.10	Efecto de la salinidad en la toxicidad por Pb.....	58
8.4	Pruebas crónicas.....	59
8.4.1	Pruebas crónicas de Cd a 72h.....	59
8.4.2	Pruebas crónicas de Pb a 72h.....	61
<b>9</b>	<b>Discusión de resultados.....</b>	<b>63</b>
9.1	Medio Instant Ocean®.....	63
9.2	Cultivo alimento.....	64
9.3	Realización de pruebas.....	65

9.4 Pruebas de toxicidad crónica..... 68

**10. Conclusiones ..... 69**

10.1 Salinidad en el efecto de la toxicidad por cadmio a 48h ..... 69

10.2 Influencia de la salinidad en la toxicidad por plomo a 48h ..... 69

**11.Glosario ..... 71**

**12.Referencias ..... 74**



**ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1** composición de los nutrientes del medio Guillard F/2 ..... 37

**Tabla 2** Análisis ANOVA del efecto de la salinidad en la toxicidad por Cd ..... 58

**Tabla 3** Análisis de confianza de Tukey para evaluar la diferencia significativa del efecto de la salinidad sobre CL50 ..... 58

**Tabla 4** Análisis ANOVA del efecto de la salinidad en la toxicidad por Pb ..... 58

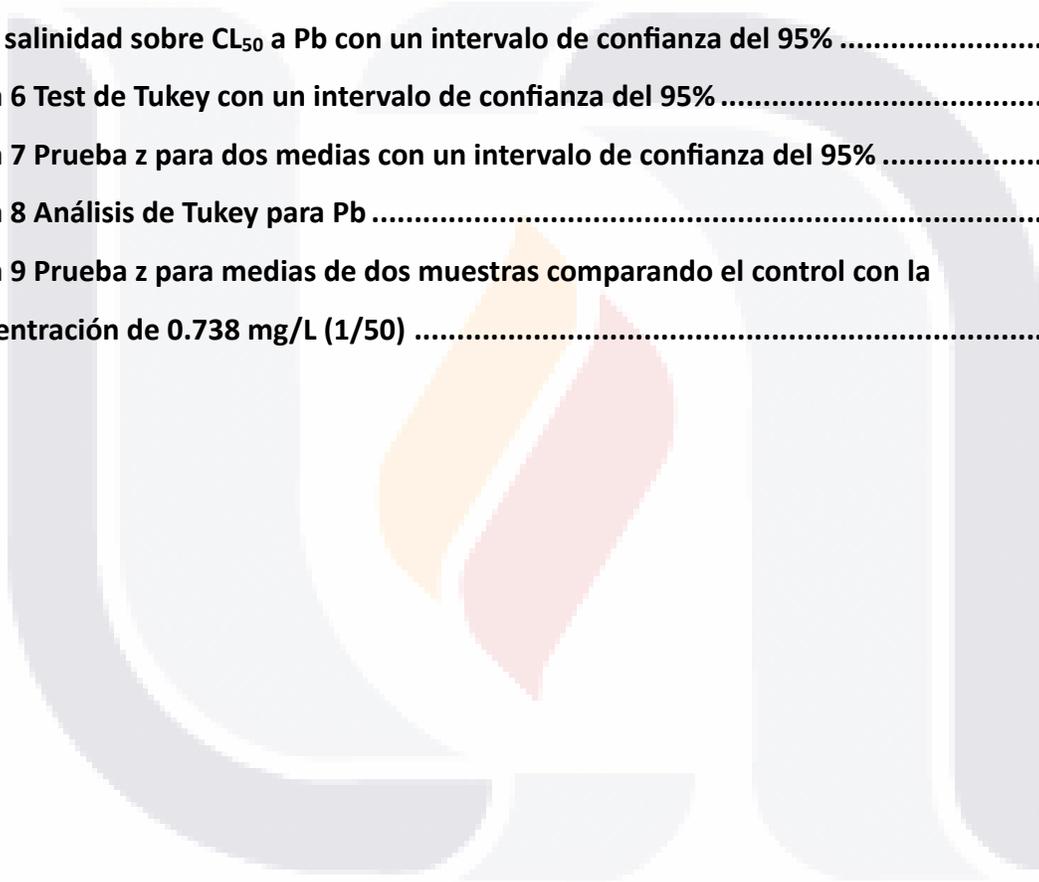
**Tabla 5** Análisis de confianza de Tukey para evaluar la diferencia significativa del efecto de la salinidad sobre CL<sub>50</sub> a Pb con un intervalo de confianza del 95% ..... 59

**Tabla 6** Test de Tukey con un intervalo de confianza del 95% ..... 60

**Tabla 7** Prueba z para dos medias con un intervalo de confianza del 95% ..... 61

**Tabla 8** Análisis de Tukey para Pb ..... 62

**Tabla 9** Prueba z para medias de dos muestras comparando el control con la concentración de 0.738 mg/L (1/50) ..... 63



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Sistema lagunar de Alvarado tomado de Benítez-Fernández et al., (2020). .....	18
Figura 2 Concentración de la salinidad en porcentaje en el Complejo Lagunar de Alvarado Realizado con R a partir de los datos de Benítez-Fernández et al. (2020).....	18
Figura 3 Ilustración científica de un ejemplar de <i>Brachionus</i> sp. (Perez, 1995) .....	20
Figura 4 Árbol filogenético obtenido de Rico Martínez et al. (2013) .....	25
Figura 5 Composición de las sales Instant Ocean® en comparación con el agua marina (Hovanec, 2024). .....	36
Figura 6 Figura superior mapa mental de la metodología para el cultivo de algas. Figura inferior Cultivo de algas <i>Tetraselmis suecica</i> y <i>Nannochloropsis oculata</i> .....	39
Figura 7 Imagen superior: metodología del cultivo de rotíferos. Imagen inferior Cultivos de <i>Brachionus plicatilis</i> a diferentes salinidades .....	40
Figura 8 Metodología de las pruebas de toxicidad letal .....	41
Figura 9 <i>Tetraselmis suecica</i> observadas a 40x, a a) 20, b) 15, c) 10, b) 5 ups.....	43
Figura 10 Cultivos del alga <i>Nannochloropsis oculata</i> a a) 20 b) 10, c) 5 ups .....	44
Figura 11 Organismos de los rotíferos <i>Brachionus plicatilis</i> a a)20, b) 15, c) 10, d)5 ups. 45	
Figura 12 Prueba de toxicidad letal para Cd a 20 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%.....	46
Figura 13 Prueba de toxicidad letal para Cd a 20 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%.....	47
Figura 14 Prueba de toxicidad letal para Cd a 15 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%.....	48
Figura 15 Prueba de toxicidad letal para Cd a 15 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%.....	49
Figura 16 Prueba de toxicidad letal para Cd a 10 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95% con un intervalo de confianza del 95% .....	50
Figura 17 Prueba de toxicidad letal para Cd a 20 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%.....	51

**Figura 18 Prueba de toxicidad letal para Pb a 20 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%..... 52**

**Figura 19 Prueba de toxicidad letal para Pb a 20 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%..... 53**

**Figura 20 Prueba de toxicidad letal para Pb a 15 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%..... 54**

**Figura 21 Prueba de toxicidad letal para Pb a 15 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%..... 55**

**Figura 22 Prueba de toxicidad letal para Pb a 10 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%..... 56**

**Figura 23 Prueba de toxicidad letal para Pb a 10 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%..... 57**

**Figura 24 Regresión lineal entre la concentración del tóxico y el número de organismos vivos con un intervalo de confianza del 95%..... 60**

**Figura 25 Regresión lineal entre la concentración de Pb y el número de organismos vivos con un intervalo de confianza del 95% ..... 62**

## Resumen

Se utilizaron organismos del complejo de especies *Brachionus plicatilis* para evaluar el efecto de la salinidad en la toxicidad de plomo y cadmio; obteniendo así que la salinidad sí tuvo una influencia significativa en la concentración de  $CL_{50}$  tanto para Cd como para Pb. Se calcularon la  $CL_{50}$  y Pb en una salinidad de 10, 15 y 20 unidades prácticas de salinidad (ups).

Se obtuvo que las  $CL_{50}$  para las pruebas letales de Cd fueron de 2.2.03 mg/L (con un intervalo de confianza [I.C.] de 1.888-2.564 mg/L). y a 48h ups.  $CL_{50}$  es de 1.538 mg/L (I.C. de 1.297-1.849 mg/L) en los organismos en medio a 20 ups; para las pruebas a 15 ups se obtuvo un valor de  $CL_{50} = 0.897$  (I.C. = 0.634-1.459) y a 48h es de  $CL_{50} = 0.518$ ; (IC = 0.355 - 0.758) y finalmente un valor de  $CL_{50}=1.0593$ mg/L (I.C. = 1.06-1.133 mg/L) y a 48h es de  $CL_{50}$ ; 1.1 mg/L; (I.C.= 1.06-1.132 mg/L) en la salinidad más baja de 10 ups. La salinidad que tiene una menor influencia en el efecto tóxico del cadmio es 20 ups mientras que 15 ups y 10 ups no tienen una diferencia significativa entre ellas

En el caso de la toxicidad por plomo se obtiene un valor de  $CL_{50}$  a 10, 15 y 20 ups de  $CL_{50} = 3.627$  (I.C.= 3.698-4.853) y 48h es de  $CL_{50} = 3.69$  mg/L; (I.C. = 3.327-4.093);  $CL_{50} = 3.606$  mg/L; (I.C. = 3.42-3.802 mg/L) y 48h es de  $CL_{50} = 3.35$  mg/L; (I.C.= 3.177-3.524 mg/L) y finalmente  $CL_{50} = 1.614$  mg/L; (I.C. = 1.432-1.82 mg/L) y 48 de  $CL_{50} = 1.312$  mg/L; (I.C. = 1.167-1.476 mg/L) respectivamente. La influencia de la salinidad en la toxicidad por plomo se observó que 10 y 20 ups fueron diferentes a 15 ups pero iguales entre ellas, siendo a 15 ups donde existe una mayor tolerancia al tóxico. En cuanto a las pruebas crónicas se obtuvo que no hubo diferencia significativa entre las medias de las concentraciones utilizadas para el cadmio, pero se pudo determinar una diferencia entre las medias de los organismos contados en la concentración de 0.738 mg/L de Plomo.

## Abstract

Organisms from the *Brachionus plicatilis* species complex were used to evaluate the effect of salinity on lead and cadmium toxicity; Thus, salinity did have a significant influence on the CL50 concentration for both Cd and Pb. The CL50 and Pb were calculated at a salinity of 10, 15 and 20 practical salinity units (psu).

I obtained a 48-h Cd LC<sub>50</sub> of 2.2.03 mg/L (with a confidence interval [C.I.] of 1.888-2.564 mg/L). The LC<sub>50</sub> is LC<sub>50</sub> is 1,538 mg/L (with an C.I. of 1,297-1,849 mg/L) in organisms at 20 psu. For the tests at 15 ups, a 24-h LC<sub>50</sub>=0.897 (I.C.=0,634-1,459) was obtained, and the 48-h LC<sub>50</sub> = 0.518; (CI = 0.355 - 0.758) and finally an CL50=1.0593mg/L (I.C.=1.06-1.133 mg/L) and at 48h it is LC<sub>50</sub>; 1.1 mg/L; (C.I.= 1.06-1.132 mg/L) at the lowest salinity of 10 ups. The salinity that has the least influence on the toxic effect of cadmium is 20 psu while 15 psu and 10 psu do not have a significant difference between them.

In the case of lead toxicity, a LC<sub>50</sub> is obtained at 10, 15 and 20 psu of -LC<sub>50</sub>= 3.627 (C.I.=3.698-4.853 mg/L) and 48h is LC<sub>50</sub>= 3.69mg/L; (C.L.= 3.327-4.093); LC<sub>50</sub>=3.606 mg/L;(C.I.= 3.42-3.802 mg/L) and 48h is CL<sub>50</sub>=3.35 mg/L;(C.I.= 3.177-3.524 mg/L) and finally LC<sub>50</sub>=1.614 mg/L; (C.I.= 1.432-1.82 mg/L) and 48 of LC<sub>50</sub>=1.312 mg/L; (C.L.= 1,167-1,476 mg/L) respectively. The influence of salinity on lead toxicity was observed that 10 and 20 psu are different from 15 psu but equal, at 15 ups there is greater tolerance to the toxic. Regarding the chronic tests, it was found that there was no significant difference between the means of the concentrations used for cadmium, but a difference could be determined between the means of the organisms counted at the concentration of 0.738 mg/L of lead.

## 1. Introducción

La influencia de la acción humana sobre los ecosistemas ha ocasionado un deterioro en los cuerpos de agua, sobre todo en los cuerpos de agua costeros, como las lagunas, las cuales reciben descargas de varios ríos y arroyos. Estos ecosistemas debido a su naturaleza tienen constantes fluctuaciones en factores ambientales abióticos como lo son la temperatura, el pH y la salinidad (Jeong et al., 2023; Wetz y Yoskowitz, 2013).

Las pruebas de toxicidad realizadas en organismos zooplanctónicos son reconocidas para poder hacer una aproximación de los efectos que pueden tener las sustancias químicas potencialmente tóxicas en una población (Kostopoulou et al., 2012; Rico-Martínez et al., 2013; Snell y Janssen, 1995).

En condiciones de laboratorio y a través de pruebas letales y pruebas crónicas se puede aproximar el efecto que tendrá un tóxico sobre un organismo, sin embargo, las condiciones en el ambiente son siempre cambiantes, por lo que es importante considerar varios factores al realizar dichas aproximaciones (Arreguin Rebolledo et al., 2021).

Debido al cambio climático los eventos climáticos extremos son cada vez más recurrentes, ya que un conjunto cada vez más complejo de perturbaciones ambientales ocurren en la actualidad, durante las sequías el flujo de agua de los ríos hacia los estuarios disminuye por lo que la salinidad aumenta, y de forma inversa: cuando existen fenómenos que resultan en la entrada de grandes cantidades de agua, como el deshielo de los polos, las tormentas y lluvias torrenciales, la salinidad disminuye (Wetz y Yoskowitz, 2013).

Estos cambios y el declive de la calidad de agua ponen en riesgo la estructura y la dinámica trófica en muchos cuerpos de agua incluidas las lagunas (Jeong et al., 2023; Wetz y Yoskowitz, 2013)

Dentro de las afectaciones que se generan debido a la actividad humana encontramos que la más importante es la decadencia de la calidad del agua en los ecosistemas dulceacuícolas ya que particularmente los conjuntos más diversos de rotíferos se pueden encontrar en

cuerpos de agua blandas, ligeramente ácidas, de aguas oligotróficas a mesotróficas y estos grupos son particularmente vulnerables a la eutrofización y la salinización (Segers, 2008).

En la presente investigación se evaluaron los efectos de la salinidad en la toxicidad del plomo y el cadmio en *Brachionus plicatilis* cepa Veracruz (filo Rotífera), a través de pruebas letales.

## **2. Antecedentes**

### **2.1 Contaminación por metales**

Los metales se encuentran naturalmente en el ambiente, algunos de ellos incluso son esenciales en los organismos para llevar a cabo actividades metabólicas esenciales como lo son el Cu, Cr, Zn, hierro (Fe) y selenio (Se). Sin embargo, las concentraciones altas de los mismos pueden ocasionar un deterioro tanto en la salud de los seres vivos como en la calidad ambiental de los diferentes ecosistemas entre ellos los cuerpos de agua.

Los cuerpos de agua se pueden contaminar por metales debido a numerosas fuentes las cuales pueden ser naturales, industriales o domésticas. (Jeong et al., 2023).

Se considera que los metales pesados son elementos naturales que tienen un alto peso atómico, por lo cual su nombre, y poseen una densidad de al menos cinco veces mayor que el del agua (Tchounwou et al., 2012).

Algunos metales y metaloides, que considerando su potencial como contaminante de los ambientes acuáticos. y por su toxicidad, llaman especialmente la atención como lo son el mercurio (Hg), plomo (Pb), arsénico (As), cobre (Cu), zinc (Zn), cadmio (Cd), níquel (Ni) y cromo (Cr)

Las industrias que más generan contaminación por metales son la minería, la fundición, la metalmecánica, las refinerías y producción de hidrocarburos, las textilerías, la producción de papel, la farmacéutica, la agricultura (Jeong et al., 2023).

Existen otras fuentes de contaminación significativas como los efluentes y descargas domésticas, la corrosión y lixiviado de metales depositados en el suelo por el depósito de partículas suspendidas ya sea de la atmósfera al suelo o bien directamente sobre la

superficie de los diferentes cuerpos de agua, así mismo la disponibilidad de estos metales en el agua dependerá de la sedimentación y resuspensión de estos (Jeong et al., 2023; Tchounwou et al., 2012).

Los estuarios y las zonas costeras tienen un gran problema de contaminación por metales pesados ya que estos metales eventualmente fluyen hacia el océano a través de una variedad de vías y ya en el océano estos circulan prácticamente por todo el mundo, donde pueden ser absorbidos por las especies acuáticas, y pueden acumularse en los tejidos corporales sin descomponerse.

Durante la biotransformación de los organismos frente a metales potencialmente tóxicos (como el Cd y Pb) pueden convertirse en formas más tóxicas dentro de los ecosistemas acuáticos, estos pueden precipitar, flotar o unirse a otros ligandos para después pasar al sedimento a la fase acuosa (Jeong et al., 2023).

Los ecosistemas acuáticos no son estáticos, estos reciben agua de las escorrentías y descargas de aguas residuales, estos también están sujetos a pasar por sequías, por lo que la concentración y disponibilidad de metales tiene tendencia a cambiar (Jeong et al., 2023; Tchounwou et al., 2012).

Los metales pesados en ambientes acuáticos no son biodegradables y son persistentes, estos pueden bioacumularse en los invertebrados que los habitan y dañar estos ecosistemas. La bioacumulación describe el aumento de la concentración de sustancias químicas en los organismos, estos los bioacumulan si la cantidad de un metal ingerido a través del agua y los alimentos contaminados excede la cantidad requerida para los procesos metabólicos y la cantidad tratada por el sistema de defensa; la toxicidad de los metales pesados varía según las diversas condiciones ambientales, como el pH, el oxígeno, la salinidad y la temperatura, a su vez las interacciones de los metales en combinación con otros metales o bien con otros tóxicos pueden tener efectos combinados, sinérgicos o mitigados en ambientes acuáticos (Jeong et al., 2023).

La presencia de metales considerados como contaminantes de importancia médica como el cadmio (Cd) y el plomo (Pb) están ampliamente distribuidos en los ecosistemas sociales por

lo que se pueden encontrar en muestras de sangre de personas (Calle et al., 2015, Pukanha et al., 2020) así como en tejidos de animales marinos (De La Luz Vázquez-Sauceda et al., 2011).

## **2.2 El cadmio en el ambiente**

El cadmio es un subproducto de la extracción y fundición de minerales de sulfuro incluyendo zinc, plomo y cobre que se utiliza galvanoplastia, recubrimientos y estabilizadores para plásticos y aleaciones no ferrosas, de igual manera se encuentra en aplicaciones agrícolas, incluyendo insecticidas, fungicidas y fertilizantes comerciales.

El cadmio es un metal de gran importancia ambiental y ocupacional, el tiempo de vida media puede ir desde los 75 días hasta los 26 años, se encuentra naturalmente en la tierra (Tchounwou et al., 2012).

Es debido a la importancia que tiene este metal en la salud humana y en el equilibrio ambiental que se debe regular la contaminación por cadmio en México. La NOM-001-SEMARNAT-2021 establece que los límites permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales a los cuerpos receptores propiedad de la nación es de 0.1 al 0.4 mg/L para el cadmio; la descarga promedio diaria permisible de cadmio en lagunas es de 0.15 mg/L, el promedio mensual tiene un límite de 0.1 mg/L.

## **2.3 El plomo en el ambiente**

El plomo se encuentra de forma natural en la tierra. Y al igual que el cadmio, el plomo también es un contaminante de gran interés debido a su importancia toxicológica. Este es un metal ampliamente utilizado en la industria, por sus cualidades particulares: ser maleable, tiene poca conductividad, es suave y resistente a la corrosión. Sin embargo, el plomo ha sido ampliamente estudiado por sus efectos negativos en la salud humana y en el ambiente, al ser un material no biodegradable este tiene la tendencia a permanecer en el ambiente (Tchounwou et al., 2012).

El plomo se ha utilizado sobre todo en la industria del armamento, la de los hidrocarburos, minería, la producción de baterías, barreras contra la radiación, aunque todavía se puede encontrar en industrias como los pigmentos, cerámicas, vidrio, pinturas, soldadura y calafateo; se ha tratado de disminuir su presencia en ellos debido a su alta toxicidad, la principal fuente de exposición en las infancias se debe a las partículas de pinturas con plomo (Jeong et al., 2023).

En México es la norma NOM-001-SEMARNAT-2021 que impone un rango límite para las descargas de agua residuales en lagunas, para el plomo va de 0.2 a 1 mg/L, el promedio de la descarga límite diaria es de 0.2 mg/L y el promedio mensual de 0.3 mg/L.

#### **2.4 Metales en la salud**

Cuando la presencia de metales traza (Zn, Fe, Cu, Cr) excede la cantidad necesaria para el metabolismo de los organismos, o bien en el caso de los metales no esenciales (Pb, Cd, etc.) estos pueden ocasionar diferentes tipos de daño celular como, daño a la membrana celular, a la mitocondria, en los lisosomas, al retículo endoplásmico, el núcleo, así como a enzimas asociadas al metabolismo, la desintoxicación y la posterior la reparación de daño.

Los metales pueden interactuar con el ADN, por medio de las proteínas nucleares, causando daños conformacionales relacionados con la modulación del ciclo celular, lo que finalmente puede derivar en apoptosis celular o carcinogénesis.

Estos metales provocan especies reactivas de oxígeno las cuales tienen un rol importante en la intoxicación y carcinogénesis; se consideran que dentro de los metales los más peligrosos para la salud de las personas y para los ecosistemas son el arsénico, el cadmio, el cromo, el plomo y el mercurio.

El cadmio se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, en humanos la exposición a cadmio se da mayormente por fumar, por consumo en comida contaminada y en exposición asociada al trabajo, aunque también se puede dar por cercanía a sitios de actividad industrial minera (Tchounwou et al., 2012). Los principales alimentos

contaminados con cadmio son los mariscos y pescados marinos y el arroz mientras que, en las infancias la principal fuente de ingestión del metal es la leche materna y la leche en polvo (Calle et al., 2015).

El cadmio es un irritante severo de los tejidos pulmonares y gastrointestinales, en una intoxicación aguda puede ocasionar dolor abdominal, sensación de quemadura, náusea, vómito, shock, pérdida de la conciencia y convulsiones, así como daño pulmonar, hepático, renal y estado de coma, mientras que la exposición crónica tiene un efecto depresivo en los niveles de serotonina, acetilcolina y norepinefrina, también pudiera ocasionar adenocarcinomas, los mecanismos por los cuales el cadmio afecta a los animales puede ser variado, por la generación de especies reactivas de oxígeno; el cadmio es considerado un carcinogénico ya que se asocian estos radicales con daños en el ADN, en la replicación de las proteínas y la reparación del daño (Tchounwou et al., 2012).

También el plomo se relaciona con la inhibición de varios mecanismos celulares de conexión afectando la fosforilación de las conexinas, que son las moléculas que forman las uniones comunicantes mediante la inducción de  $\beta$ -catenina para trasladarse al núcleo, donde altera la expresión génica de la conexina, que es una molécula clave para las uniones comunicantes, el cadmio también induce la interrupción de las uniones estrechas y el estrés oxidativo directo. En humanos el cadmio puede causar efectos negativos sobre la salud reproductiva este puede detener el desarrollo embrionario; este se considera un agente teratogénico, lo cual está demostrado en animales el cual afecta al embrión desde la implantación hasta la organogénesis (Calle et al., 2015).

El cadmio exhibe efectos nocivos en los invertebrados acuáticos incluso en bajas concentraciones, el cadmio estaba relacionado con una variedad de efectos tóxicos, como la absorción deficiente de nutrientes, la disfunción en la homeostasis redox celular y el estrés oxidativo y el metabolismo, lo que lleva al retraso del crecimiento y la inhibición de la reproducción (Jeong et al., 2023). Su afectación es sistémica y puede dañar varios órganos en los que se encuentran los riñones, el hígado, el sistema nervioso, el tejido hematopoyético, el sistema endocrino y el sistema reproductivo (Pukanha et al., 2020).

El sistema nervioso es especialmente vulnerable al plomo que puede ocasionar dolor de cabeza, problemas de atención, irritabilidad, pérdida de la memoria y adormecimiento (Tchounwou et al., 2012) mientras que en la exposición al plomo en mujeres embarazadas puede ocasionar la reducción en el peso del producto, nacimiento prematuro y daño del desarrollo neurológico, discapacidad auditiva, comportamientos antisociales (Pukanha et al., 2020); en una exposición aguda este puede ocasionar daño cerebral, daño renal, enfermedades gastrointestinales (Jeong et al., 2023). y durante el embarazo puede ocasionar la inducción a abortos espontáneos y en hombres un bajo conteo de espermatozoides (Pukanha et al., 2020). Mientras que la exposición crónica puede ocasionar defectos en la sangre, daño al sistema nervioso central, cambios en la presión arterial y defectos metabólicos (Tchounwou et al., 2012) y aunado a esto el plomo tiene la cualidad de ser bioacumulable y se ha demostrado su biomagnificación en la fauna acuática (Alvarado-Flores et al., 2012; Alvarado-Flores y Rico-Martínez, 2017).

A su vez el plomo se une a las moléculas biológicas de las proteínas alterando su función desde varios mecanismos, uno de los mecanismos por los cuales actúa el plomo es a través de un proceso bioquímico en el cual compite con los cationes metálicos para sus sitios de unión, esto puede producir la inhibición de la actividad enzimática o alterar el transporte de cationes esenciales como el calcio inhibiendo su función interactuando de forma perjudicial con las proteínas. El plomo tiene la capacidad de copiar o inhibir la acción del calcio interactuando así con las proteínas de las células, por ejemplo, en el esqueleto este puede ser incorporado en el lugar del calcio.

El plomo se une a los grupos sulfhidrilos y amida de las enzimas, alterando su configuración y disminuyendo sus actividades o alterando el transporte de los cationes esenciales como el calcio. Su daño se encuentra también asociado a las especies reactivas de oxígeno generando daño en el ADN, en sus proteínas y la reparación de este, el plomo interfiere en el canal dependiente de calcio de las células neuronales y la señal de transducción intracelular alterando la función de los organelos generadores como el retículo endoplásmico y la mitocondria. El plomo es considerado carcinogénico, puede ocasionar mutaciones, daño genético (Tchounwou et al., 2012).

La producción de especies reactivas de oxígeno inducida por plomo daña indirectamente los componentes lipídicos de las membranas celulares, lo que dificulta el funcionamiento de las células. En un estudio a exposición al plomo realizado a la almeja *Venus verrucosa* este aumentó los niveles de malondialdehído, hidroperóxido de lípidos y peróxido de hidrógeno y disminuyó los lípidos totales y los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados inhibiendo la actividad de desaturasa y elongasa en branquias (Jeong et al., 2023).

La presencia de estos metales en los cuerpos de agua representa un peligro para el equilibrio ambiental pero también para la salud de las personas que consumen a los animales que habitan estos ecosistemas, por lo que también se han establecido normas que regulan el consumo humano de estos metales en los alimentos, la NOM-129-SSA1-1995 sobre los Bienes y servicios. Productos de la pesca: secos-salados, ahumados, moluscos cefalópodos y gasterópodos frescos-refrigerados y congelados determina que estos productos marinos no deben exceder la concentración de 0.5 mg/kg de cadmio ni 1.0 mg/kg de plomo.

Sin embargo, estos productos de origen animal frecuentemente se encuentran en ambientes que tienen una mayor concentración de estos tóxicos y por lo tanto pueden presentar niveles de concentraciones de los contaminantes que sobrepasan los límites máximos permisibles (Guzmán Amaya et al., 2005)

## **2.5 La Laguna de Alvarado**

La cepa utilizada en el presente proyecto fue obtenida del Sistema Lagunar de Alvarado, uno de los 23 Sistemas Lagunares en el Golfo de México el cual podemos destacar como uno de los más importantes del golfo (Figura 1).

Sus dimensiones son 26 km de longitud aproximada, 5 km amplitud y un área de 80.6 km<sup>2</sup>; este tiene una profundidad promedio de 2.5 m, en la Laguna de Alvarado se ha reportado una salinidad promedio de 7.5 ups y una temperatura media anual de los 18 a 26° C. En el complejo lagunar se desarrollan actividades pesqueras de importancia. En la Laguna de Alvarado la variación espacio temporal de los nutrientes se relaciona con la descarga de los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ríos Papaloapan, Blanco, El Limón, Acula y Camarón, este sistema lagunar desemboca hacia el mar.

La salinidad es un factor determinante para la distribución y diversidad de las especies acuáticas, la salinidad de La Laguna de Alvarado está influenciada por tres épocas climáticas: lluvias (junio-septiembre), nortes o frentes fríos (octubre-febrero) y secas (marzo-junio) siendo oligohalino (0 - 3.8 ups durante temporada de lluvias y mesohalino durante nortes (0 – 11.5ups) y secas (0 - 14.5 ups). Siendo la zona reportada con mayor salinidad la laguna Camaronera y en descenso hacia Alvarado (Figura 2) donde ocurre la desembocadura de río, finalmente la desembocadura hacia el Golfo de México en donde se presentan salinidades entre 36.4 y 36.8ups.

Se ha documentado la biodiversidad de rotíferos en la Laguna de Alvarado en Veracruz, México es importante destacar su diversidad biológica ya que este es un ecosistema muy heterogéneo; se han identificado 24 especies de rotíferos y cuatro especies de cladóceros, siendo la familia Brachionidae la más abundante, en un estudio realizado en entre septiembre del 2017 y mayo del 2018 se encontró que la mayor diversidad ocurre en la zona sur durante la época de lluvias y la menor en el periodo de nortes (Benítez-Fernández et al., 2020).

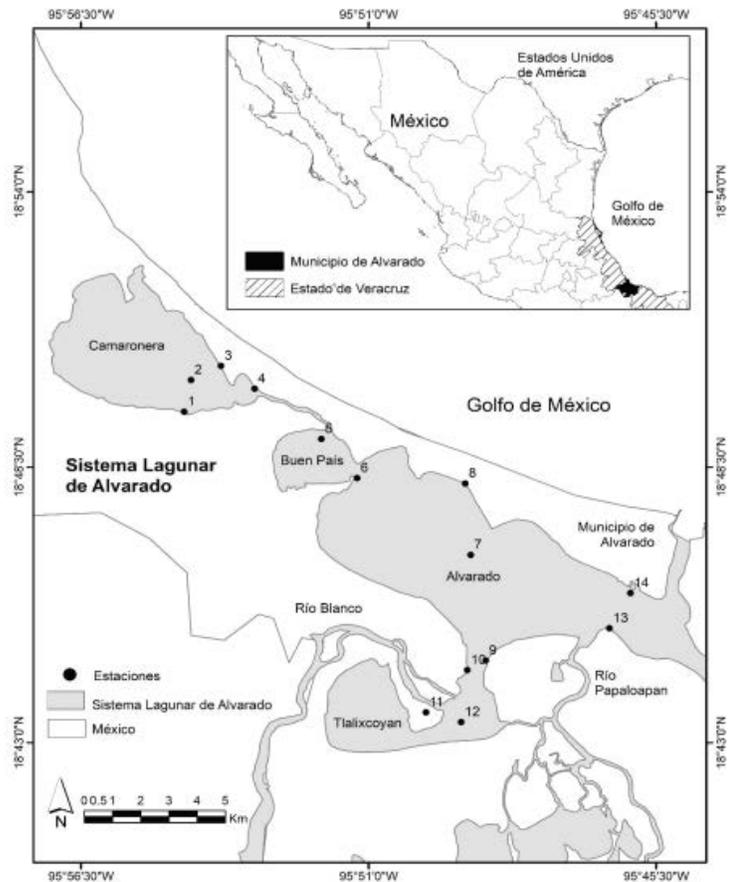


Figura 1 Sistema lagunar de Alvarado tomado de Benítez-Fernández et al., (2020).

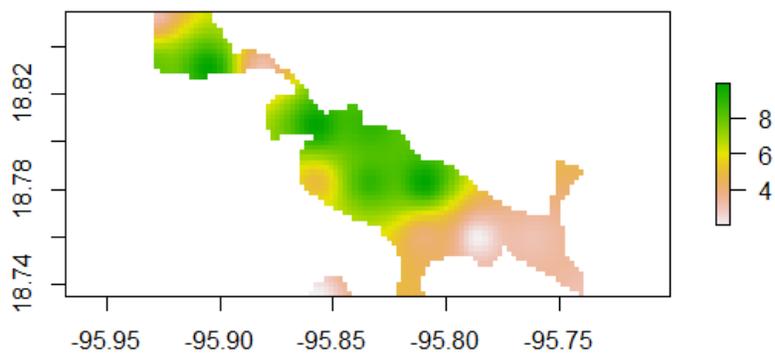


Figura 2 Concentración de la salinidad en porcentaje en el Complejo Lagunar de Alvarado Realizado con R a partir de los datos de Benítez-Fernández et al. (2020).

Los sistemas lagunares de Alvarado, Mandinga y Tamiahua en el estado de Veracruz se encuentran sometidos bajo el estrés ocasionado por el daño ambiental por embarcaciones pesqueras; la contaminación por desechos sólidos y de ingenios azucareros, las actividades económicas alrededor de la laguna de Alvarado se basan en la pesca de camarón, en róbalo y jaiba; sin embargo las lagunas presentan problemas de contaminación por agroquímicos, fertilizantes, desechos industriales, aguas negras, al deterioro del ecosistema se le puede sumar la tala de manglar, incrementando la erosión y acarreo de sedimentos (Guzmán Amaya et al., 2005); determinaron en las lagunas de Alvarado, Mandinga y Tamiahua, de marzo de 1998 a noviembre de 1999, la concentración (total y biodisponible) de cadmio, cobre, cromo, níquel, plomo y zinc, en sedimento y en ostión *Crassostrea virginica* obteniendo las concentraciones de plomo de 27.5 µg/g en Alvarado; 29.6 µg/g en Mandinga y 17.3 µg/g en Tamiahua; así como valores para cadmio de 0.9 µg/g en Mandinga y 6.2 µg/g.

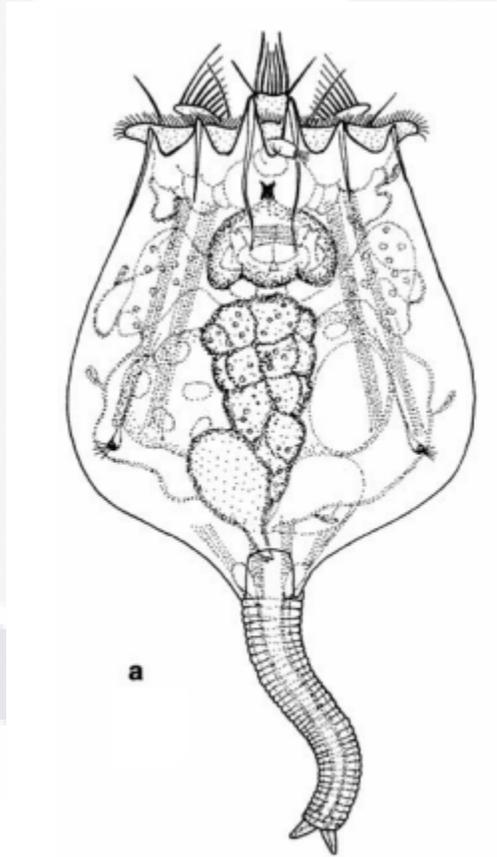
## **2.6 Filo Rotífera**

Los rotíferos son parte importante del zooplancton y ya que pueden habitar prácticamente cualquier cuerpo de agua, tienen una tasa de reproducción muy alta, un ciclo de vida corto su forma principal de reproducción es partenogenética por lo que la casi absoluta población es hembra tanto en el medio natural como en sus cultivos. Son consumidoras primarias las cuales a su vez son el alimento de muchos estados larvarios de peces e invertebrados (Segers, 2008). Es un organismo que es ampliamente utilizado en la agricultura y en pruebas de toxicidad (Ciros-Pérez et al., 2001; Segers, 1995).

El filo Rotífera es un grupo de invertebrados acuáticos relativamente pequeño, estos cuentan con simetría bilateral, son pseudocelomados, miden entre 50 y 2000 micras y por lo menos las hembras, son organismos complejos (Figura 3), estos no están segmentados, son pseudocelomados y de simetría bilateral, están formados por tres secciones: cabeza, tronco y pie, las estructuras anatómicas más sobresalientes de los rotíferos son el mastax, la corona, la cutícula la cual puede estar endurecida o blanda, la mayoría son nadadoras aunque se han encontrado especies sedentarias y coloniales tienen diversas características.

La característica más sobresaliente es que cuentan con una corona anterior, apical y ciliada, que le sirve en la natación y en la alimentación (Segers, 2008).

La presencia de la corona distingue a los rotíferos de todos los demás metazoos, y los movimientos metacronales de los cilios en el aparato rotacional anterior, da la ilusión de dos ruedas giratorias, lo cual es una de las características que distingue a los organismos pertenecientes a este grupo. Generalmente tienen forma de saco y se pueden distinguir 4 regiones: una cabeza poseedora de la corona, un cuello de longitud variable, un cuerpo y un pie, poseyendo típicamente 2 dedos (puede variar entre 1 y 4) el cual usualmente se retrae durante la natación (Segers, 2008).



**Figura 3 Ilustración científica de un ejemplar de *Brachionus* sp. (Perez, 1995).**

POSEEN UN ESPACIO INTERNO LLENO DE FLUIDO QUE ES CONOCIDO COMO EL PSEUDOCELOMA, EL CUAL SE LIGA EXTERNAMENTE CON EL INTEGUMENTO E INTERNAMENTE CON LAS CÉLULAS EPITELIALES DE VARIOS ÓRGANOS (DIGESTIVO, PROTONEFRIDIAL Y REPRODUCTIVO). NO HAY SISTEMAS RESPIRATORIOS NI CIRCULATORIOS EN LOS ROTÍFEROS. EL FLUIDO INTERNO DEL PSEUDOCELOMA ACTÚA COMO UN SISTEMA CIRCULATORIO, IRRIGANDO LOS ÓRGANOS INTERNOS. SU COMPOSICIÓN ESTÁ REGULADA POR LOS PROTONEFRIDIOS Y SE REABASTECE POR EL TRACTO DIGESTIVO.

CUENTAN CON APROXIMADAMENTE 2,000 ESPECIES IDENTIFICADAS, ORDENADAS EN TRES CLASES: SEISONACEA CON TRES ESPECIES IDENTIFICADAS, BDELLOIDEA CON 461 Y MONOGONONTA SIENDO LA QUE TIENE MÁS ESPECIES IDENTIFICADAS CON 1570 RECIENTEMENTE SE HA PROPUESTO UNA CUARTA CLASE: ACANTHOCEPHALA (SEGERS, 2008).

LA REPRODUCCIÓN DE LAS HEMBRAS DE ROTÍFERO ES, POR LO GENERAL, A TRAVÉS DE PROPÁGULOS LOS CUALES CONSISTEN EN QUISTES ENCAPSULADOS ÚNICOS, DE CÁSCARA DURA Y DURADEROS EN EL GRUPO DE LOS MONOGONONTES O INDIVIDUOS ANHIDROBIÓTICOS EN BDELLOIDEOS. ESTOS PROPÁGULOS AL SER PEQUEÑOS Y RESISTENTES A LA SEQUÍA HACEN QUE LOS ROTÍFEROS SE ADAPTEN PERFECTAMENTE A LA DISPERSIÓN PASIVA, AÉREA O FORÉTICA.

LA REPRODUCCIÓN MÁS COMÚN EN ESTOS ORGANISMOS ES POR PARTENOGENESIS LO QUE DERIVA EN UNA DESCENDENCIA CLONAL HEMBRA, AUNQUE BAJO CIERTAS CONDICIONES SE PUEDEN OBTENER MACHOS Y SE PUEDE DAR LA REPRODUCCIÓN SEXUAL DIPLOIDE (PRESTON Y SNELL, 2000).

EN LOS MONOGONONTES, LOS PERÍODOS DE REPRODUCCIÓN PARTENOGENÉTICA SE INTERCALAN CON FASES SEXUALES MIENTRAS QUE LOS BDELLOIDEOS SON ÚNICOS POR SER EL GRUPO MÁS DIVERSO DE METAZOOS EN LOS QUE LA REPRODUCCIÓN SE REALIZA ÚNICAMENTE POR PARTENOGENESIS DIPLOIDE Y MITÓTICA.

EN GENERAL SE CONSIDERAN COMO ESPECIES CRÍPTICAS YA QUE ES DIFÍCIL DETERMINAR LA ESPECIE DE UNA POBLACIÓN ESTO POR CIERTAS CARACTERÍSTICAS PARTICULARES DE SU PHYLUM, SON PEQUEÑOS, CRECEN DE UNA VARIEDAD DE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS ÚTILES, TIENEN ALTA VARIABILIDAD.

LA COMBINACIÓN DE SU ALTA CAPACIDAD DE DISPERSIÓN Y SU REPRODUCCIÓN PARTENOGENÉTICA, QUE LES PERMITE ESTABLECER O RENOVAR UNA POBLACIÓN A PARTIR DE UNA ÚNICA ETAPA DE REPOSO Y

alcanzar tamaños poblacionales efectivos relativamente rápidos, los convierte en teoría en colonizadores y recolonizadores (Segers, 2008).

Los rotíferos son parte importante del equilibrio de los sistemas ecológicos acuáticos al ser parte importante de la cadena trófica ya que son el alimento de muchos estados larvarios de peces e invertebrados, a esto se le añade su fácil cultivo en laboratorio, su bajo costo de mantenimiento, su corto ciclo de vida, la reproducción partenogenética, en general podemos decir que las pruebas de toxicidad en rotíferos son beneficiadas por las características de estos animales. Los rotíferos son fáciles de reproducir, relativamente baratos ya que reduce costos en tiempo materiales y reactivos, tienen un tamaño relativamente pequeño, son fáciles de reproducir por partenogénesis lo que deriva en una descendencia clonal hembra, y es una ventaja cuando se realizan pruebas en estos organismos ya que elimina la variación de los resultados derivados de la reproducción diploide, además son sensibles a los tóxicos, y guardan una gran importancia en los ecosistemas (Preston y Snell, 2000; Rico-Martínez et al., 2013; Snell y Janssen, 1995; Snell y Moffat, 1991).

### **2.7 Complejo de especies de *Brachionus plicatilis***

*Brachionus plicatilis* era considerado un organismo cosmopolita, cepas pertenecientes a este complejo de especies están presente en prácticamente todos los continentes y en una gran variedad de cuerpos de agua, este es eurihalino por lo que se puede encontrar en cuerpos de agua con diferentes concentraciones de salinidad, como lagunas temporales o bien como sistemas lagunares costeros, debido esto y a su tolerancia a condiciones extremas y su posición en los niveles tróficos y la generación de huevos en diapausa, ésta tiene la capacidad de colonizar rápidamente cuerpos de agua, mientras las condiciones sean adecuadas (Segers, 2008).

Durante muchos años se consideró a *Brachionus plicatilis* como una sola especie cosmopolita, generalista, presente en todos los continentes y en prácticamente todos los ambientes marinos, lacustres y dulceacuícolas (Segers, 1995) sin embargo nuevos estudios

que combinan caracteres morfológicos, estudios genéticos, reproductivos y biogeográficos han determinado que este grupo de organismos son más bien un complejo compuesto de varias especies (Ciros-Pérez et al., 2001; Mills et al., 2016; Segers, 2008).

El complejo *Brachionus plicatilis*, es el más estudiado de los rotíferos todavía hasta la actualidad (Mills et al., 2016).

La clasificación del complejo *Brachionus plicatilis* por mucho tiempo se basó caracteres morfológicos dividiéndolos en dos grupos los morfotipo grande (L) morfotipo pequeño (S) posteriormente se comprobó que estos eran dos especies diferentes *Brachionus plicatilis* (morfotipo grande) y *Brachionus rotundiformis* (morfotipo pequeño) (Segers, 1995)

Mas adelante se redefinió en tres nuevas especies: *B. plicatilis* sensu stricto, *B. ibericus*, *B. rotundiformis* y once linajes genéticamente diferentes que podrían representar diferentes especies (Ciros-Pérez et al., 2001).

Finalmente, a partir de datos previamente disponibles y secuencias moleculares existentes y un estudio realizado en secuencias de COI e ITS1 y tres enfoques en el ADN (ABGD, PTP y GMYC) en 1273 aislados de *B. plicatilis* utilizando la información disponible previamente y la obtenida se comparó la información genética, los caracteres morfológicos y los sitios características ecológicas (como habiada y ambiente originario) se demostró que existen por lo menos 15 especies, los autores descubren que la pasada separación morfológica de los rasgos como el cuerpo y su longitud y la plasticidad genética como tamaño del genoma, utilizando modelos filogenéticos comparativos, si tiene un fundamento filogenético (Mills et al., 2016).

Este complejo de especies comparte características que los hacen modelos adecuados para realizar ensayos de toxicidad alrededor del mundo, *B. plicatilis* tiene una tasa de crecimiento alta, así como su capacidad de ingestión; su tamaño es pequeño el cual le proporciona la cualidad de poder ser cultivado en un volumen pequeño de agua, este grupo cumple con una función importante en el flujo de energía debido a su importante a su nivel trófico como consumidor primario, son fáciles de cultivar tienen un tiempo generacional corto y generan embriones diapáusicos. Se ha observado que las diferentes cepas de cultivo de *B. plicatilis*

son diferencialmente sensibles entre ellas, dependiendo de su lugar de origen y otras variables (Kostopoulou et al., 2012). *B. plicatilis* no solo es ampliamente utilizado para la evaluación de la toxicidad, también es ampliamente utilizado como alimento a larvas de peces en la acuicultura (Castro Barrera et al., 2003).

La cepa a la que, en el trabajo realizado por (Rico-Martínez et al., 2013) como *Brachionus* sp. "Veracruz" es la cepa utilizada en el actual proyecto (cepa Alvarado), de acuerdo con el autor ésta representa un nuevo linaje o posiblemente una nueva especie del linaje conocido de complejo de especies que conforma *B. plicatilis*, la cepa Alvarado no ha sido completamente caracterizado genéticamente; aunque si se realizó un árbol filogenético (Figura 4), por lo que es importante realizar estudios sobre sus niveles de tolerancia, se deben postular cepas locales para establecer los límites permisibles en los cuerpos de agua de la nación. Lo que los estudios realizados sobre la cepa, se van a brindar resultados novedosos sobre la tolerancia a la salinidad al cadmio y plomo en diferentes condiciones de salinidad. Comprender patrones y procesos en la diversidad biológica y su relación con factores abióticos en el cambio climático es esencial sobre todo en los taxones que son importantes modelos ecológicos, toxicológicos y evolutivos.

El complejo *Brachionus plicatilis*, es el grupo de organismo más estudiado de los rotíferos. Sin embargo, debido a su taxonomía críptica, el comprender patrones y procesos en la diversidad biológica que este implica es una tarea crítica dadas las condiciones actuales de cambio climático. Generar conocimiento sobre las cepas locales de *Brachionus plicatilis* muy importante ya que este es considerado modelo ecológico y evolutivo (Kostopoulou et al., 2012). La realización de estudios sobre toxicidad ambiental en organismos nativos de la nación proporciona información valiosa sobre los niveles de tolerancia de una población, se deben postular cepas locales para establecer los límites permisibles de las normas mexicanas sobre descargas de agua y proponer niveles permisibles (Rico-Martínez et al., 2013).

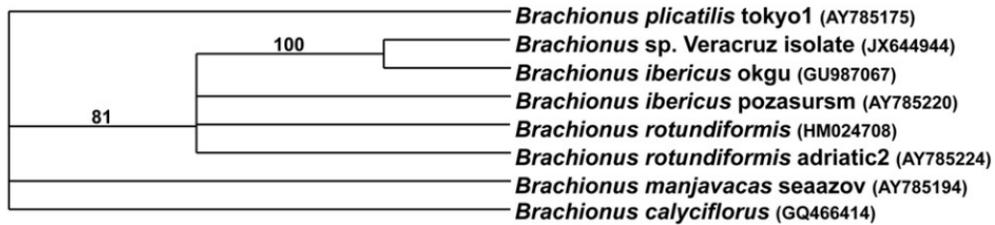


Figura 4 Árbol filogenético obtenido de Rico Martínez et al. (2013).

### 2.8 Estudios de toxicidad con rotíferos

Alrededor de los años setenta se comenzaron a realizar numerosas pruebas en rotíferos evaluando la toxicidad de diferentes sustancias. Snell & Janssen (1995) realizaron una compilación muy extensa de las pruebas hasta entonces realizadas en rotíferos ahora 18 años después el número de papeles publicados de evaluación de tóxicos en estos organismos se ha incrementado.

Comprender patrones y procesos en la diversidad biológica es una tarea crítica dadas las condiciones actuales y rápido cambio ambiental, tal conocimiento es incluso más esencial cuando los taxones bajo consideración son importantes modelos ecológicos y evolutivos (Mills et al., 2016).

Muchos de estos organismos zooplanctónicos han sido utilizados para evaluar pruebas de toxicidad alrededor del mundo, uno de los métodos más aceptados es la evaluación de toxicidad mediante una prueba aguda de 48h utilizando el crustáceo *Daphnia magna straus*, es una especie de cladóceros europeo que no es nativo en América que recientemente se ha encontrado en México el sitio RAMSAR de Ciénegas de Lerma en Toluca, México debido a una liberación accidental (Espinosa-Rodríguez et al., 2023).

Por otra parte, las especies del género *Brachionus* y *Lecane* son una buena opción para evaluar la contaminación en México. Por ejemplo, *Lecane quadridentata*, *Lecane hamata* y *Lecane luna* han sido recolectadas y estudiadas en México este es grupo adecuado de organismos sobre de los cuales se pueden realizar pruebas de toxicidad acuática para evaluar la calidad de los cuerpos de agua nacionales.

La especie del género *Lecane* se han utilizado con anterioridad para evaluar la toxicidad aguda de 48 horas, el  $CL_{50}=0.23$  y concentración máxima donde no se observó un efecto diferente al control (CNOE) 0.05 para *Lecane hamata*; obteniendo que el  $CL_{50}$  0.35 mg/L CNOE 0.25 mg/L para *L. luna* y un  $CL_{50}$  0.28 mg/L CNOE 0.05 mg/L para el *L. quadridentata* para cadmio mientras que para plomo las concentraciones fueron del  $CL_{50} =0.23$  y NOEC 0.15 para *Lecane hamata*; obteniendo que el  $CL_{50}= 0.14$  mg/L CNOE 0.1 mg/L para *L. luna* y un  $CL_{50}= 3.7$  mg/L CNOE 2.2 mg/L para el *L. quadridentata* para cadmio; realizar pruebas en varias especies a la vez proporciona una perspectiva más amplia sobre las concentraciones de tóxicos que pueden poner en riesgo a una especie más sensible (Pérez-Legaspi y Rico-Martínez, 2001).

Posteriormente se realizaron más estudios en la especie *L. quadridentata* para evaluar los límites puntuales de dos pesticidas de acción anticolinesterasas (Pérez-Legaspi et al., 2010).

Las pruebas de toxicidad con zooplancton representan una herramienta muy útil para evaluar la contaminación ambiental acuática, algunas de ellas son pruebas agudas donde se obtiene la Concentración Letal Media, es decir sea la concentración de exposición del tóxico que causa la muerte del 50% de los organismos.

En 1974 Baudouin y Scoppa ya hablaban sobre la importancia de evaluar los efectos de los metales sobre las comunidades zooplanctónicas para establecer criterios para la conservación y como organismos potenciales para pruebas de toxicidad en aguas residuales industriales, ellos utilizaron al copépodo *Cyclops abyssorumprealpinus* (Einsle), el crustáceo *Eudiaptomus padanus padanus* (Burkhard) y el crustáceo *Daphnia hyalina* evaluando la  $CL_{50}$  de varios metales entre ellos el cadmio y el plomo, derivado de sus experimentos ellos calculan una  $CL_{50}$  para *C. abyssorumprealpinus* (Einsle), de para el plomo de 5.5 mg/L y de para el cadmio 3.8 mg/L, obteniendo una  $CL_{50}$  para *E. padanus padanus* de para el plomo 4 mg/L y de para el cadmio 0.55 mg/L, obteniendo una  $CL_{50}$  para *Daphnia hialina* de para el plomo 0.6 mg/L y de para el cadmio 0.055 mg/L siendo ésta la más sensible de las especies evaluadas (Baudouin y Scoppa, 1974).

En 1995 Snell y Janssen destacan que el género más utilizado en ese momento era *Brachionus*, en dicha publicación se estima un valor de concentración letal cincuenta (CL<sub>50</sub>) de cadmio en el rotífero *Brachionus plicatilis* de 56.8 mg/L (Snell y Persoone, 1989 como se citó en Snell y Janssen, 1995) y para el plomo de menos de 4.0 mg/L (Snell et al., 1991 como se citó en Snell y Janssen, 1995) ambos en una exposición de 24 horas.

Evaluar la toxicidad en más de un organismo de diferente grupo nos puede proporcionar una visión más amplia sobre el efecto de un tóxico en un sistema acuático colectaron dos organismos de un cuerpo de agua dulce subterráneo (cenotes) en Mérida, Yucatán posteriormente determinaron la CL<sub>50</sub> de cadmio en el rotífero *Philodina roseola* la cual fue de 0.7 mg/L. en una exposición de 24 h y la del oligoqueto *A. hemprichi* CL<sub>50</sub> la cual fue de 3.38 mg/L. Esto en una exposición de 30 min.

En la naturaleza los organismos deben de sobrevivir varios ciclos de vida para garantizar la permanencia de la población, es por lo que es importante realizar pruebas de toxicidad en las que se evalué la parte más sensible del ciclo o en su caso el ciclo de vida entero, sobre todo cuando los organismos se prestan para este tipo de evaluación por sus características de vida (Preston y Snell, 2000).

En contraste con las pruebas letales, las crónicas evalúan otros aspectos de la historia de vida de los organismos más allá de si viven o mueren, estas pueden evaluar el efecto de un toxico en la tasa de reproducción, la tasa de ingestión, eclosión de huevos.

Se pueden obtener varios valores de la concentración máxima como donde no se observan efectos diferentes al control (CNOE) y la concentración mínima con efectos observados (CMOE) y finalmente la concentración de efecto en la cual el tóxico afecta la mitad de la población (EC<sub>50</sub>)(Snell et al., 2013).

Determinar la tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ), es una medida ecológica muy importante ya que se utiliza para estimar el crecimiento potencial de una población, Snell y Moffat (1991) evaluaron 11 tóxicos diferentes donde se realizó una prueba de toxicidad crónica de dos días a *Brachionus calyciflorus* para determinar la tasa intrínseca de crecimiento  $r$  dentro del cual el cadmio tuvo una CNOE de 0.04 mg/L y una CMOE de 0.08 mg/L y el valor crónico

de 0.06 mg/L, en este estudio los autores resaltan las cualidades positivas en los rotíferos como organismos de prueba incluyendo su ciclo vida relativamente corto.

Para la prueba crónica de tasa de crecimiento  $r$  se observó que la variable se reducía de forma dependiente al incremento de la dosis usada del tóxico, para *B. plicatilis* la  $EC_{50}$  es de 1 mg/L para el cadmio compartiendo esta cifra con el CMOE (Juchelka y Snell, 1995 como se citó en Snell & Janssen, 1995) para el rotífero *B. calyciflorus*  $EC_{50}$  es de 0.07mg/L y un CNOE de 0.04 mg/L (Snell y Molfat, 1992 como se citó en Snell y Janssen, 1995).

Preston & Snell (2000) realizaron pruebas en *B. calyciflorus* utilizando los huevos no eclosionados de los rotíferos para evaluar la tasa de eclosión CNOE, CMOE y la  $CE_{50}$  (Concentración de efecto 50 sobre todo cuando el parámetro que se mide es diferente a la mortalidad) para el tóxico cobre y el tóxico pentacolorofenol (PCP); obteniendo que el CNOE fue 0.001 mg/L , CMOE fue 0.025 mg/L y la  $CE_{50}$  fue 0.196 mg/L para el PCP y un CNOE de 0.0028, CMOE de 0.006 y la  $CE_{50}$  de 0.0054 mg/L para el cobre.

Se ha utilizado el rotífero *Proales similis* para la realización de pruebas agudas en la cual determinaron el valor de  $CL_{50}$  de 50.09 mg/L en una prueba de 6 h y también realizó pruebas crónicas de ingesta, eclosión de huevos de 32.29 mg/L, ingesta 2.20 mg/L y reproducción 1.01 mg/L. Los huevos en diapausa estos no requieren el cultivo de animales de prueba, Los huevos en diapausa de *P. similis*, pueden ser producidos, almacenados e incubados bajo condiciones controladas para producir animales para pruebas de toxicidad (Snell et al., 2013).

## **2.9 El efecto de la salinidad en la toxicidad por metales**

La salinidad es un factor determinante para la distribución, abundancia y la diversidad de las especies acuáticas (Arreguin Rebolledo et al., 2021; Benítez-Fernández et al., 2020; Moha-León et al., 2015).

De igual manera se sabe que el efecto de algunos tóxicos se puede ver influenciado por la salinidad y la temperatura en algunos organismos como *P. similis*, este puede habitar cuerpos de agua dulces y salados por lo que estudiar los efectos de la salinidad en este es relevante (Arreguin Rebolledo et al., 2021).

La salinidad es un factor importante en los efectos de la intoxicación por metales ya que este afecta la movilidad de los metales pesados en sedimentos y columnas de agua. Debido a la ausencia de pulsos salinos y un aumento simultáneo de la escorrentía, la salinidad ha disminuido en varios ambientes costeros.

Las lluvias intensas e inundaciones reducen drásticamente la salinidad de los ecosistemas costeros. En general, la biodisponibilidad y la toxicidad de los metales en los organismos acuáticos aumentan a salinidades más bajas por que es menos probable que los iones metálicos formen complejos con aniones y hay menos competencia con los cationes por los sitios de unión de metales en los organismos (Jeong et al., 2023).

*B. plicatilis* puede habitar dentro de un rango de salinidad amplio se han realizado estudios con sobre la salinidad y el fotoperíodo en tablas de vida en *B. plicatilis* cepa Alvarado, a través de las tablas de vida se puede entender la importancia que tienen los factores ambientales en la estructura poblacional de los rotíferos. La tasa intrínseca de crecimiento depende de la interacción salinidad temperatura en rangos de salinidad ideales; para *B. plicatilis* cepa Alvarado se han reportado una tasa funcional entre el 5ups y el 20ups siendo las mejores condiciones del cultivo en laboratorio a 15ups independientemente del fotoperíodo (Moha-León et al., 2015) La temperatura y salinidad óptima encontrada en un estudio sobre otra cepa de cultivo de *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca, Peru fueron los 30 °C y 15 o 25 ups respectivamente (Rosales Barrantes, 2012) mientras que en la cepa colectada en de una granja de camarones cerca de una laguna costera dentro del sistema lagunar del Estuario de Urias en Mazatlán, Sinaloa de 10 ups (Arreguin Rebolledo et al., 2018).

Los factores abióticos tienen una relación con el mantenimiento de una población, en el medio natural estos factores son numerosos y no se pueden controlar. Sin embargo, uno de los factores más importantes para la distribución de la riqueza de las especies acuáticas de sistemas lagunares y sensibilidad a tóxicos, como se ha mencionado anteriormente, es la salinidad, por lo cual se han estudiado los efectos combinados de la temperatura y la

salinidad evaluando el crecimiento poblacional de *Proales similis* y *Brachionus plicatilis* bajo factores de estrés por contaminación a mercurio.

Los resultados de las pruebas crónicas permiten una comprensión más amplia y una predicción del efecto de los contaminantes en la historia de vida de los organismos, utilizando pruebas de toxicidad multigeneracionales implica que la hembra reproductiva este expuesta a sustancias tóxicas, debilitando así su descendencia, lo que implica tasas de crecimiento poblacional más baja.

Cada especie respondió de manera diferente a la salinidad, por ejemplo, las tasas de crecimiento de la población de *P. similis* fueron mayores a 20ups mientras que *B. plicatilis* creció mejor a 10ups de salinidad. *P. similis* aunque es considerado eurihalino, se sabe que a salinidades superiores a 30ups organismos requieren más energía en el proceso osmótico priorizándolo sobre la reproducción; sin embargo algunos cultivos de *B. plicatilis* pueden llegar a valores más elevados de salinidades de 10 a 60 ups dicha tolerancia depende de las características del cuerpo de agua donde se originan los taxones (Arreguin Rebolledo et al., 2018).

En las pruebas realizadas por Arreguin Rebolledo et al., (2018), la salinidad no afectó las variables relacionadas con la supervivencia, como el promedio de vida y la esperanza de vida al nacer, pero sí influyó en las variables reproductivas, como la tasa bruta y la esperanza de vida y las tasas reproductivas netas también se obtuvo que *P. similis* es más sensible que *B. plicatilis* a la toxicidad por mercurio. La interacción entre la toxicidad del mercurio, la salinidad y la temperatura puede afectar en gran medida la mortalidad y la reproducción de los rotíferos de agua salobre expuestos a cambios ambientales, esta interacción ilustra que el estrés fisiológico puede reducir la tolerancia de los organismos a los contaminantes ambientales.

También se han utilizado los metales zinc, hierro, cobre, níquel y mercurio para evaluar los mecanismos de toxicidad, así como la entrada y acumulación de los metales, la bioconcentración y la carga corporal a través de experimentos de toxicidad aguda, epifluorescencia y absorción atómica en el rotífero *Euchlanis dilatata* en el que se demostró

que de estos metales el mercurio es el más tóxico para este organismo y que los metales se acumulan sobre todo en el estómago (Hernández-Flores et al., 2020).

Se evaluó el efecto de la salinidad y la temperatura sobre la toxicidad aguda y crónica y la competencia ocasionada por arsénico a los rotíferos marinos *Proales similis* y *Brachionus ibericus* se sabe que varios factores abióticos influyen en las respuestas ecológicas de los invertebrados acuáticos a la toxicidad de los metales por ejemplo el efecto de la salinidad fue evaluado a 10, 20 y 30 ups y la temperatura a 25 y 32 °C sobre el arsénico en pruebas agudas y crónicas; a salinidades altas y bajas temperatura resultó en una menor toxicidad por arsénico. Los estudios de crecimiento de la población indicaron que *P. similis* era más sensible que *B. ibericus* por lo que en un ambiente de competencia *P. similis* es más vulnerable a los factores de estrés (salinidad, temperatura y toxicidad por arsénico) que *B. ibericus*. Los parámetros de la tabla de vida disminuyeron con el aumento de los niveles de As en el medio. Los bioensayos de toxicidad crónica fueron más sensibles que las pruebas de toxicidad aguda para determinar el efecto adverso del As en los rotíferos (Arreguin Rebolledo et al., 2020).

En el medio ambiente los organismos se tienen que enfrentar a una variedad de condiciones abióticas como la temperatura y la salinidad, así como a una gran variedad de tóxicos por ejemplo los metales esenciales como lo son el cromo (Cr), el cobre (Cu), el hierro (Fe), el níquel (Ni) y el zinc (Zn) a concentraciones elevadas y a metales no esenciales como el mercurio (Mg), el cadmio (Cd) y el plomo (Pb) que dependiendo de su concentración, pueden resultar tóxicos la vida acuática (Jeong et al., 2023; Tchounwou et al., 2012).

Se han realizado evaluaciones donde se estudian tanto los efectos de las concentraciones de un solo metal como la mezcla de estos para poder predecir y prevenir la permanencia de organismos que son sensibles, se han evaluado los efectos de la salinidad sobre ensayos toxicológicos agudos y crónicos de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb y Zn solos y combinados con la especie *Proales similis* se intensificó como la toxicidad mientras la salinidad disminuyó de 35 a 5 ups los efectos sinérgicos se observaron principalmente en un bajo índice de salinidad demostrando también que las mezclas de múltiples metales en esta especie es más toxica

que los metales individuales demostrando que tanto en las pruebas crónicas como en las agudas de un solo metal o de una mezcla de estos tenían una relación en la que al disminuir la salinidad el efecto tóxico era mayor, a 5ups fue donde se encontró mayor efecto de los tóxicos (Arreguin-Rebolledo et al., 2021).

Finalmente Jeong et al (2023) realizaron una revisión de estudios individuales y mixtos de los metales pesados y metaloides en invertebrados acuáticos describieron las características generales de los metales pesados y las evaluaciones que se han realizados sobre invertebrados acuáticos con estos contaminantes de forma individual como en combinación con otros factores abióticos como tóxicos emergentes o la salinidad, la temperatura, el pH y sus efectos en los invertebrados acuáticos y revisaron los blancos fisiológicos y bioquímicos en los invertebrados acuáticos, cabe destacar que *B. calicyflorus* es el organismo más sensible a cadmio y plomo la CL<sub>50</sub> de *B. calicyflorus* para plomo fue de .00042 mg/L en el rotífero *Proales similis* fue de 0.665 mg/L y la CL<sub>50</sub> de *B. calicyflorus* para cadmio fue de 0.0085 mg/L (Jeong et al., 2023).

### **3. Justificación**

La presencia de las poblaciones de rotíferos en la composición del zooplancton es muy importante, debido a que estas poblaciones de organismos son consideradas como consumidores primarios, a su vez estos son alimento de numerosos organismos como lo son los estadios larvales de diferentes animales vertebrados e invertebrados, por lo que son parte importante del equilibrio de los sistemas acuáticos en los que habita naturalmente.

Los rotíferos son parte importante del equilibrio de los sistemas acuáticos, por lo cual, la evaluación de tóxicos con modelos de rotíferos representa una herramienta muy útil para evaluar la contaminación ambiental acuática; es probable que la cepa Alvarado, sea una especie nueva del complejo de *B. plicatilis*, por lo que, evaluar los niveles de tolerancia a condiciones de estrés ambiental, nos permite conocer los límites virtuales de capacidad de contaminantes que puede soportar una población de organismos.

Los cultivos de rotíferos son ideales para realizar pruebas de toxicidad ambiental, debido a su fácil cultivo, su bajo costo de mantenimiento, su corto ciclo de vida y su pequeño tamaño, ahorrando, materiales, contaminación y espacio, sobre todo comparando con otros organismos de mayor tamaño como por ejemplo peces o crustáceos.

Se deben evaluar y conocer los efectos de los contaminantes y su relación con factores abióticos en los sistemas ecológicos, sobre todo en los sistemas costeros que naturalmente tienen cambios en su salinidad, pero que también están más expuestos debido a eventos climáticos extremos y a la contaminación antropogénica en la actualidad la conservación de los recursos hídricos es de importancia nacional e internacional. Es por ello por lo que se busca garantizar el acceso al agua y la protección de la vida submarina, así como su correcto saneamiento a través del estudio de tóxicos y otros procesos contaminantes en ella; estas problemáticas se buscan atender de forma científica e innovadora a través del Programa Nacional Estratégico, se deben preservar los servicios ecosistémicos de las áreas naturales para garantizar una vida digna.

#### **4. Hipótesis**

La salinidad afectará la toxicidad de cadmio y plomo sobre la cepa Alvarado de *B. plicatilis*. Es de esperar a que a mayor salinidad se requiera de una concentración mayor de tóxico para observar los mismos efectos adversos que en salinidades bajas. No podemos desestimar el efecto bioquímico/genético resultado de la salinidad óptima a la que se adaptó y aclimató a la cepa Alvarado.

#### **5. Objetivos**

##### **5.1 Objetivos generales**

Determinar la influencia de la salinidad sobre la toxicidad del cadmio y plomo en el rotífero *Brachionus plicatilis* cepa Alvarado mediante pruebas de toxicidad agudas y crónicas.

## 5.2 Objetivos específicos

Realizar pruebas de toxicidad letal en el rotífero *Brachionus plicatilis* cepa Alvarado en cuatro diferentes salinidades y en diferentes concentraciones de los metales cadmio y plomo.

## 6. Incidencia, impacto social o ambiental esperado

Evaluar los niveles de tolerancia a condiciones de estrés ambiental nos permite aproximarnos a los límites virtuales de concentración de contaminantes que puede soportar una población de organismos en una región dada. La evaluación de tóxicos con modelos de rotíferos representa una herramienta muy útil para evaluar la contaminación ambiental acuática de una población. Evaluar los niveles de tolerancia a condiciones de estrés ambiental nos permite aproximarnos los límites virtuales de concentración de contaminantes que puede soportar una población de organismos. Los servicios ecosistémicos de las áreas naturales son fundamentales para el derecho a un medio ambiente sano. La salud de los seres vivos que habitamos en los diferentes ecosistemas del planeta dependemos del equilibrio ecológico y los servicios ecosistémicos de las áreas naturales. Dentro de los Objetivos del Desarrollo Sostenible de la ONU: el agua limpia y su correcto saneamiento, así como la protección de la vida submarina son en listados como prioridades a nivel mundial. Programas nacionales estratégicos: Tóxicos y Procesos Contaminantes, agua y sistemas socio-ecológicos.

En el trabajo realizado por Rico-Martínez et al., (2013) los autores se refieren como *Brachionus* sp. "Veracruz" a los rotíferos utilizados los cuales pertenecen a la misma cepa utilizada en el actual proyecto ( en el cual nos referimos como cepa Alvarado), de acuerdo con el autor la cepa Alvarado representa un nuevo linaje o posiblemente una nueva especie del linaje conocido de complejo de especies que conforma *B. plicatilis* , la cepa Alvarado no ha sido completamente caracterizado genéticamente, por lo que es importante realizar estudios sobre sus niveles de tolerancia.

Se deben postular cepas locales para establecer los límites permisibles en los cuerpos de agua de la nación. Lo que los estudios realizados sobre la cepa Alvarado van a brindar

resultados novedosos sobre la tolerancia a la salinidad al cadmio y plomo en diferentes condiciones de salinidad. Comprender patrones y procesos en la diversidad biológica y su relación con factores abióticos en el cambio climático es esencial sobre todo en los taxones que son importantes modelos ecológicos, toxicológicos y evolutivos.

El complejo *Brachionus plicatilis*, es el grupo de organismo más estudiado de los rotíferos sin embargo debido a su taxonomía críptica, el comprender patrones y procesos en la diversidad biológica que este implica es una tarea crítica dadas las condiciones actuales de cambio climático. Generar conocimiento sobre las cepas locales de *Brachionus plicatilis* muy importante ya que este es considerado modelo ecológico y evolutivo. La realización de estudios sobre toxicidad ambiental en organismos nativos de la nación proporciona información valiosa sobre los niveles de tolerancia de una población, se deben postular cepas locales para establecer los límites permisibles de las normas mexicanas sobre descargas de agua y proponer niveles permisibles en cuerpos de agua lacustres.

## **7. Metodología**

### **7.1 Cepa de alimento**

Se cultivaron las algas que se utilizaron como alimento para los organismos las cuales se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Alimento Vivo del Instituto Tecnológico de Boca del Río, Veracruz.

Se cultivó el alga *Nannochloropsis oculata* utilizando la cepa del Laboratorio de toxicología acuática de la Universidad Autónoma de Aguascalientes adaptada a agua dulce para las salinidades más bajas de 5ups y 10 ups. Y la del cepario del Laboratorio de Alimento Vivo para las salinidades más altas de 15 y 20 ups cultivado en medio Guillard y Bold.

## 7.2 Cultivo de alimento vivo

Se cultivó el alga *Tetraselmis suecica* a cuatro en medio Guillard a diferentes salinidades de 5, 10, 15 y 20 ups (Figura 5) en medio Guillard f/2 (Guillard 1975; McGuillard y Ryther 1962 como se citó en Band Schmidt, 2017).

Se cultivó el alga *Tetraselmis suecica* a cuatro salinidades de 5, 10, 15 y 20 ups, con la finalidad de dar como alimento a las hembras de rotífero.

Para cultivar el alga a las diferentes salinidades se utilizó agua destilada a la cual se le añaden las sales preparadas para acuario comerciales de marca Instant Ocean®, las sales asemejan la composición de sales marinas (Figura 5) existen diferentes productos de la marca; las concentraciones de las sales pueden variar. Éstas sales han sido ampliamente utilizadas para los acuarios artificiales públicos, particulares y en estudios científicos (Hovanec, 2024).

Table 1. Mean Concentration of the Major Ions or Constituents of Natural Seawater and Instant Ocean® Synthetic Sea Salt		
Ion	Natural Seawater	Instant Ocean
Sodium (Na <sup>+</sup> )	10.781	10.780
Potassium (K <sup>+</sup> )	0.399	0.420
Magnesium (Mg <sup>++</sup> )	1.284	1.320
Calcium (Ca <sup>++</sup> )	0.4119	.400
Strontium (Sr <sup>++</sup> )	0.00794	.0088
Chloride (Cl <sup>-</sup> )	19.353	19.290
Sulfate (SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	2.712	2.660
Bicarbonate (HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	0.126	.200
Bromide (Br <sup>-</sup> )	0.0673	.056
Boric Acid (B(OH) <sub>3</sub> )	0.0257	
Fluoride (F <sup>-</sup> )	0.00130	.001

Figura 5 Composición de las sales Instant Ocean® en comparación con el agua marina (Hovanec, 2024).

Una vez que se alcanzó la salinidad requerida, se esterilizó el medio en autoclave.

Ya en el laboratorio de Toxicología Acuática se prepararon los nutrientes del medio Guillard f/2 (Guillard 1975 MeGuillard y Ryther 1962 como se citó en Band Schmidt, 2017). Se prepararon los nutrientes en recipientes de dos litros los cuales contienen las sales y vitaminas; las vitaminas en ampollas inyectables de uso humano fueron utilizadas (Combedi del laboratorio AMSA) ya que estas contienen las vitaminas indicadas para el cultivo de algas (Tabla 1).

**Tabla 1 composición de los nutrientes del medio Guillard F/2**

Nutriente	Gramos en dos litros
NaNO <sub>3</sub>	150 g /2L
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	10 g/2L
Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O	8.72g/2L
FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	6.3 mg/2L
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	19.6 MG/2L
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	44 G/2L
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	20G/2L
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	360 g/2L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	12.6 g/2L
7H <sub>2</sub> O	

Vitamina	Concentración m/2L

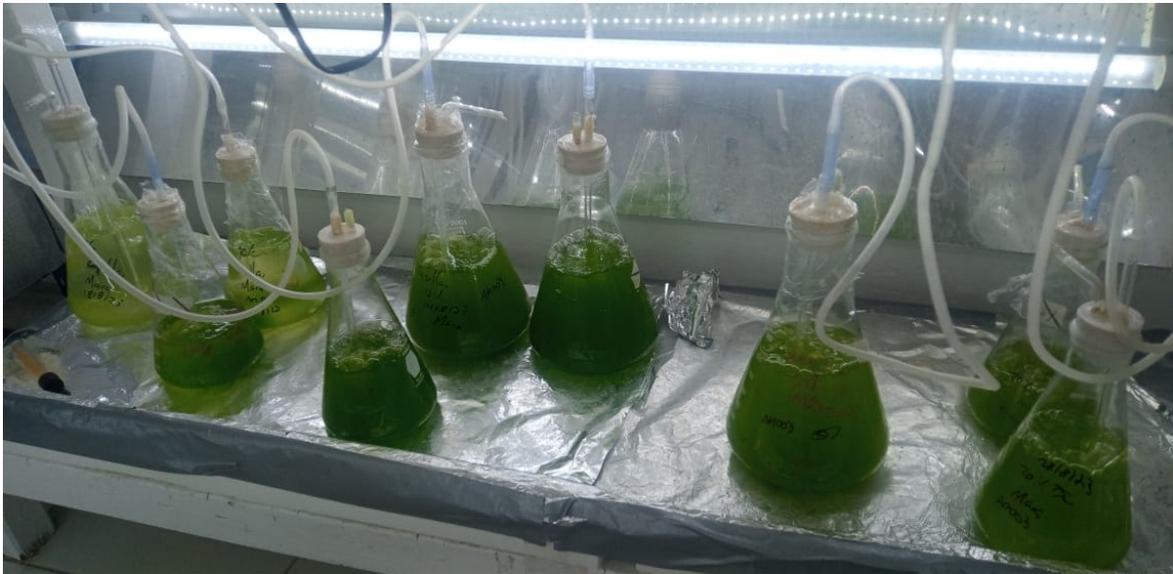
Tiamina	100
Piridoxina	50
Cianocobalamina	20

Se realizaron varias adaptaciones acordes con las necesidades del proyecto en lugar de utilizar agua purificada de mar se utilizó agua destilada para la preparación de los micronutrientes, macronutrientes y las vitaminas.

A los medios estériles se les añadió macronutrientes, micronutrientes y vitaminas, y el alga correspondiente al volumen a cultivar utilizando una equivalencia de 0.5ml de cada nutriente al medio preparado a las diferentes salinidades. El medio se conectó a una bomba de aire, en el Laboratorio de Alimento Vivo se utilizaron filtros para motocicleta en las mangueras a manera de evitar contaminantes, sobre todo de esporas de hongos.

En el Laboratorio de Alimento Vivo se cultivó el alga *Nannochloropsis oculata* a tres salinidades de 5, 10 y 20 ups, esto con la finalidad de dar como alimento a los rotíferos siguiendo la misma metodología (Figura 6).





**Figura 6 Imagen superior. mapa mental de la metodología para el cultivo de algas. Imagen inferior. Cultivo de algas *Tetraselmis suecica* y *Nannochloropsis oculata***

### **7.3 Ceba utilizada rotífero**

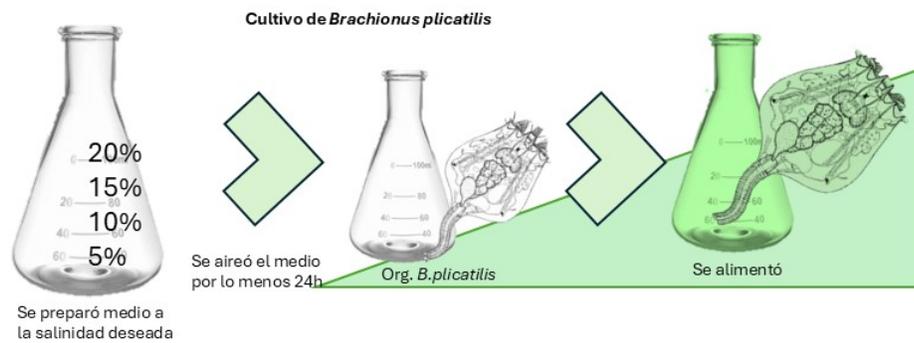
Se utilizó el cultivo de *Brachionus plicatilis* del Laboratorio de Alimento Vivo del Instituto Tecnológico de Boca del Río, Veracruz de la cepa Alvarado. La cepa Alvarado fue recolectada en la Laguna de Alvarado, frente a la costa del suroeste de Veracruz, en el Golfo de México.

### **7.4 Condiciones de cultivo**

Existen ligeras variantes entre el cultivo de las hembras de rotífero (y de las algas utilizadas como alimento) ya que del periodo de agosto a enero del 2024 se trabajó en el Laboratorio de Alimento Vivo (LAV) en Boca del Río, Veracruz, mientras que del periodo de enero a julio y hasta la entrega del presente proyecto se trabajó en el Laboratorio de Toxicología Acuática (LTA) en la ciudad de Aguascalientes, Ags.

En el LAV se mantuvieron cuatro cultivos en las condiciones de salinidad 5, 10, 15 y 20 ups correspondientes a las pruebas de toxicidad, estos no se mantuvieron en cámara de temperatura controlada, por lo que la temperatura fue de  $26^{\circ}\text{C} \pm 6^{\circ}\text{C}$ , de igual manera, el periodo lumínico fue el natural (de agosto a enero) el cual se estima es de 16:8. El pH de los cultivos varió de entre el  $8 \pm 1$ . Se adaptaron las salinidades de los cultivos de *B. plicatilis* a 5, 10, 15 y 20 ups los rotíferos fueron alimentados en su mayoría con el alga *Tetraselmis*

*suecica* y en menor proporción con *Nannochloropsis oculata* (Figura 7). En cuanto al medio que se usó para el mantenimiento del cultivo y para las pruebas, se utilizó agua desionizada, la cual se ajustó a las diferentes salinidades con la fórmula comercial Instant Ocean® de la cubeta de ese laboratorio. Se airearon los medios entre 24 y 48 horas para incrementar la cantidad de oxígeno disuelto utilizando filtros para gasolina de motocicleta para filtrar el aire y así evitar contaminación aérea, lamentablemente no se midió el oxígeno disuelto.



**Figura 7** Imagen superior: metodología del cultivo de rotíferos. Imagen inferior Cultivos de *Brachionus plicatilis* a diferentes salinidades

En el LTA se mantuvieron las condiciones mencionadas con algunas diferencias ya que los cultivos permanecieron en una cabina con temperatura constante de 25°C con un periodo lumínico de 16:8, los cultivos a 5 ups no se adaptaron en las nuevas condiciones del laboratorio.

### 7.5 Pruebas de toxicidad letal

En las pruebas montadas en el LAV se utilizó estándar de plomo y de cadmio a 1000µg/ml para determinar los rangos de concentración ya que estos se encontraban caducados desde el 2016. Se realizó un estándar de plomo a 20mg/L del cual se obtuvo el resto de las concentraciones. Posteriormente en Aguascalientes se utilizaron estándares nuevos con la misma concentración de metales.

Para las pruebas se utilizó la metodología de (Arreguin Rebolledo et al., 2018) con algunas adaptaciones. Para la obtención de los neonatos para la realización de las pruebas se alimentaron 24h antes a las hembras de rotífero para que generaran huevos, posteriormente se apartaron en medio limpio, sin alimento. Después de 24 horas, se obtuvieron los neonatos, los cuales tienen una edad aproximada 24 h ±1 a partir de la eclosión.

Se separaron y colocaron en las placas de cultivo de 24 pocillos, colocando 10 organismos por cada pocillo. (figura 8). finalmente se añadió el tóxico respectivo y se contaron las hembras de rotífero sobrevivientes. Y se realizó una regresión lineal y se calcula la LC<sub>50</sub> de cada concentración (10, 15, 20 ups).

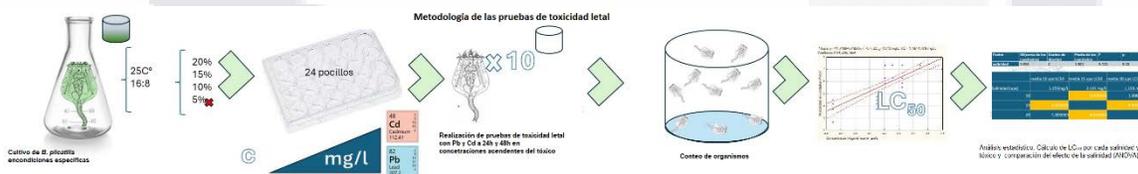


Figura 8 Metodología de las pruebas de toxicidad letal

### 7.6 Pruebas de toxicidad crónica

Se utilizó estándar de plomo y de cadmio a 1000µg/mL para determinar los rangos de concentración del cual se obtuvieron el resto de las concentraciones.

Se modificó el protocolo utilizado por Rico-Martínez et al., 2013 colocando una concentración de alimento de 49,990/ml de células de *Tetraselmis suecica* y posteriormente se añadieron las diferentes concentraciones del tóxico las cuales se calcularon a partir de la  $LC_{50}$  correspondiente a cada tóxico.

Se les dio alimento 48h antes de las pruebas para estimular la generación de huevos en las hembras. Se apartaron las hembras de rotífero en medio limpio sin alimento por 24 h y del medio limpio se obtuvieron los neonatos. A su vez fueron separadas y colocadas en las placas de cultivo de 24 pocillos, colocando 5 hembras por cada pocillo.

Para el cadmio se realizaron 6 repeticiones de cada una de las siguientes concentraciones calculado a partir de la  $LC_{50}$  de 1.538 mg/L la cual fue calculada a 48h: 0.001538 (1/1000), 0.003076 (1/500), 0.01538 (1/100) y 0.03076 (1/50) mg/L

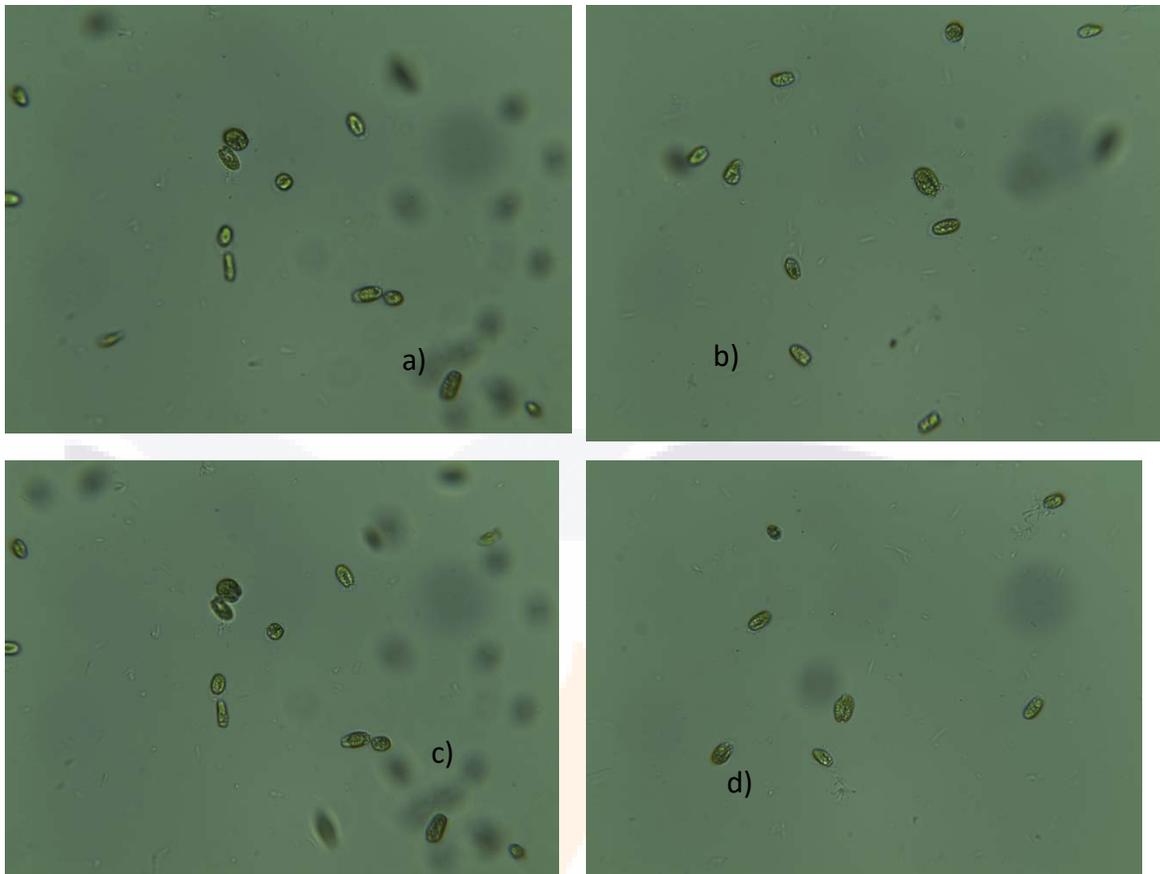
Mientras que para plomo se obtuvo una  $LC_{50}$  =3.69 mg/L a 48h por lo que se evaluaron 6 repeticiones por cada concentración de: 0.00369 (1/1000), 0.00738 (1/500), 0.0369 (1/100), 0.738 y (1/50) mg/L.

Se contaron las hembras vivas que había por pocillo después de 72 h. Con los datos obtenidos se realizó un análisis ANOVA y una prueba de Tukey en el programa Statistical.

## **8 Resultados**

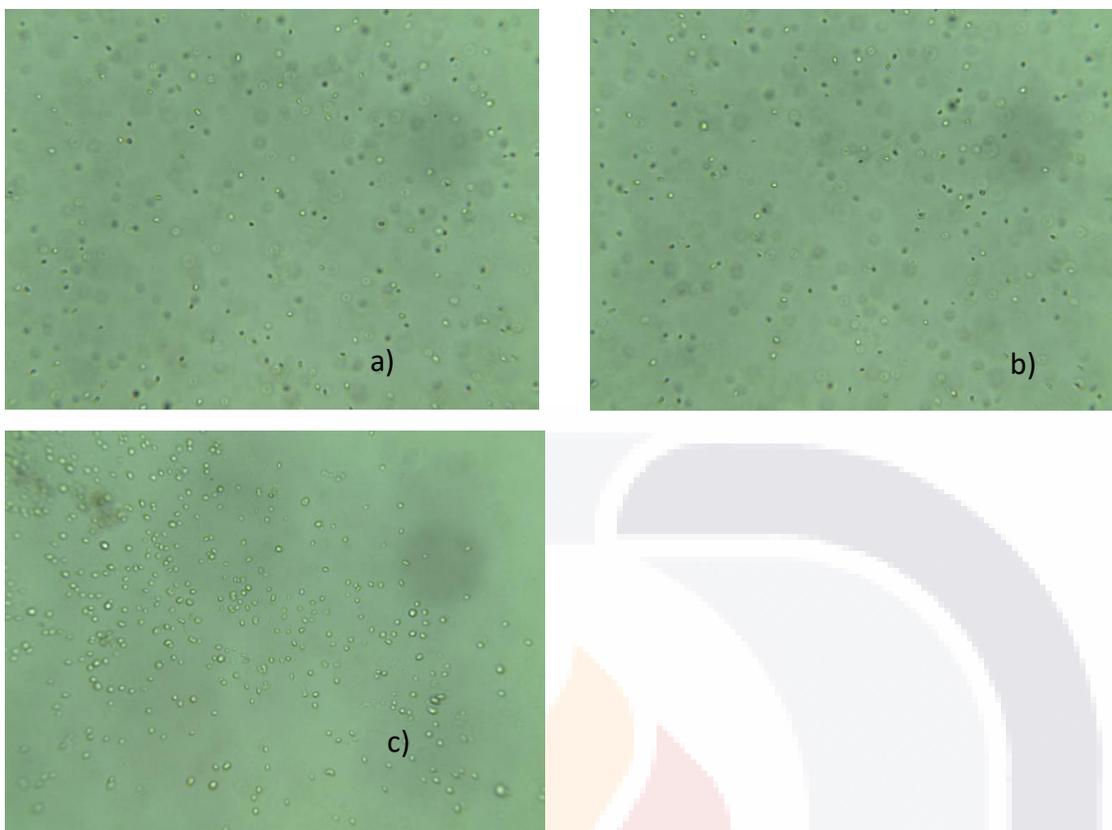
### **8.1 Cultivos de alimento**

Se adaptaron con éxito a las salinidades los cultivos del alga *Tetraselmis suecica* a 5, 10, 15 y 20 ups (figura 9).



**Figura 9 *Tetraselmis suecica* observadas a 40x, a a) 20, b) 15, c) 10, b) 5 ups.**

Se adaptaron a las salinidades 10,15 y 20 ups los cultivos del alga *Nannochloropsis oculata* a 5, 10 y 20 ups (Figura 10).



**Figura 10 Cultivos del alga *Nannochloropsis oculata* a) 20 b) 10, c) 5 ups**

### **8.2 Cultivo de rotíferos**

En el Laboratorio de Alimento Vivo se adaptaron los organismos de *Brachionus plicatilis* a 5, 10, 15 y 20 ups (Figura 11), cuando los organismos se intentaron cultivar en el Laboratorio de Toxicología Acuática el cultivo a 5ups no sobrevivió, es decir que los controles no lograron sobrevivir 48h.

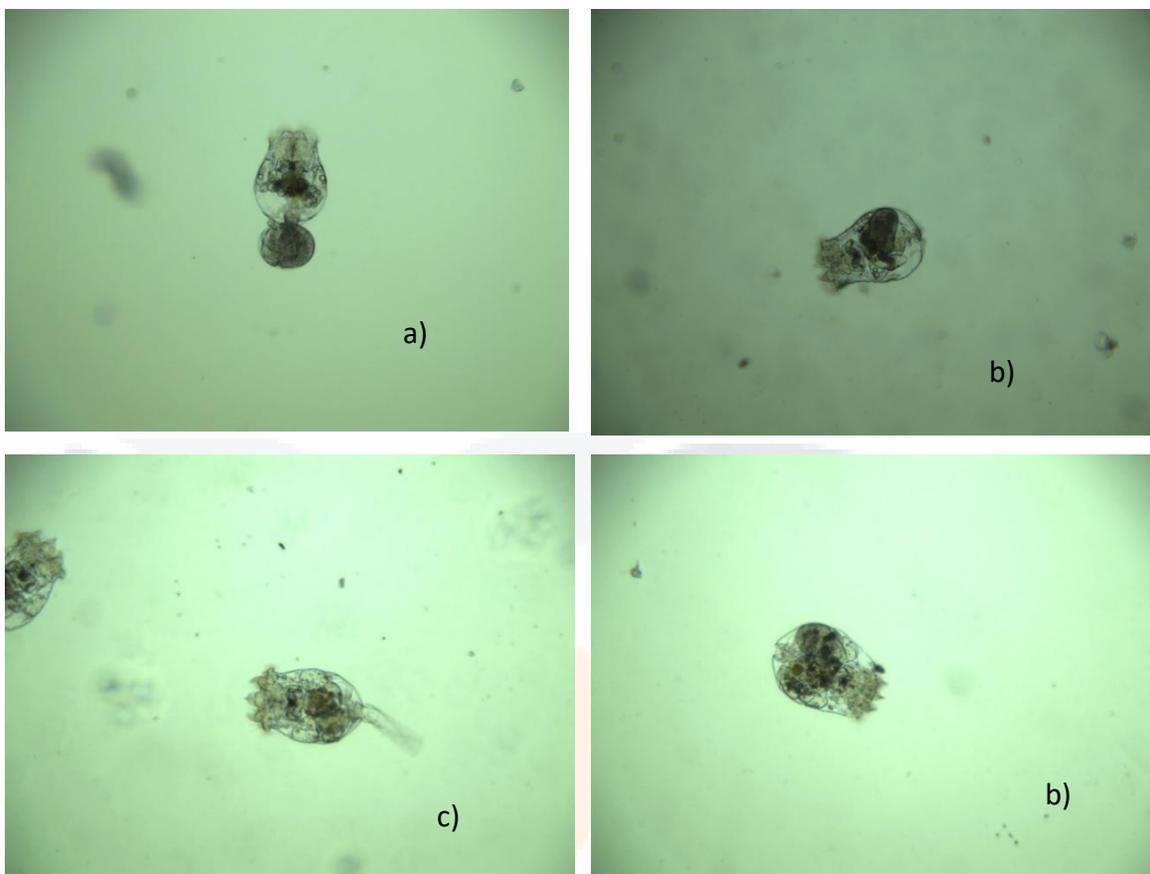


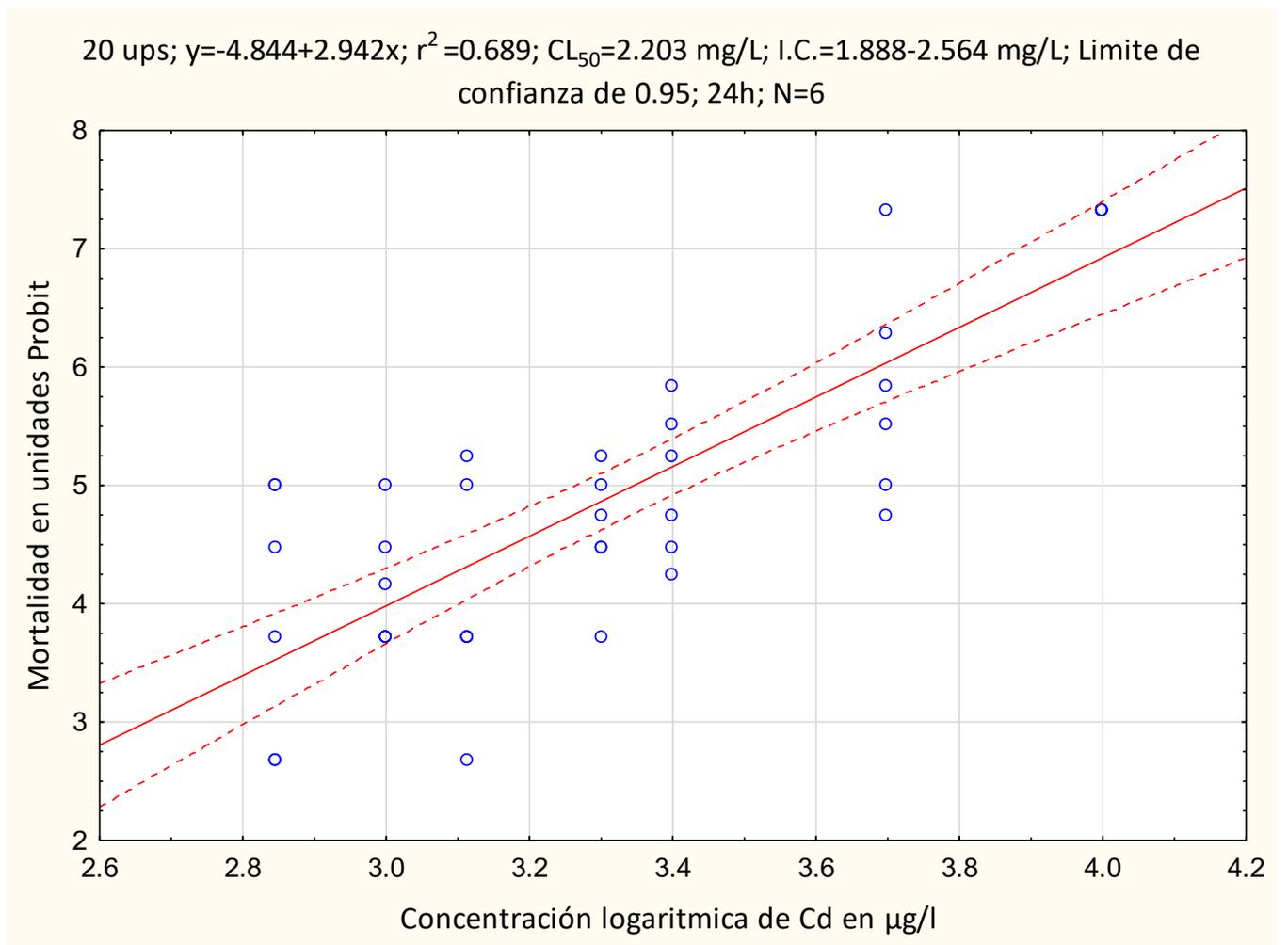
Figura 11 Organismos de los rotíferos *Brachionus plicatilis* a) 20, b) 15, c) 10, d) 5 ups

### 8.3 Pruebas de toxicidad letal

#### 8.3.1 Resultados de toxicidad aguda para Cd

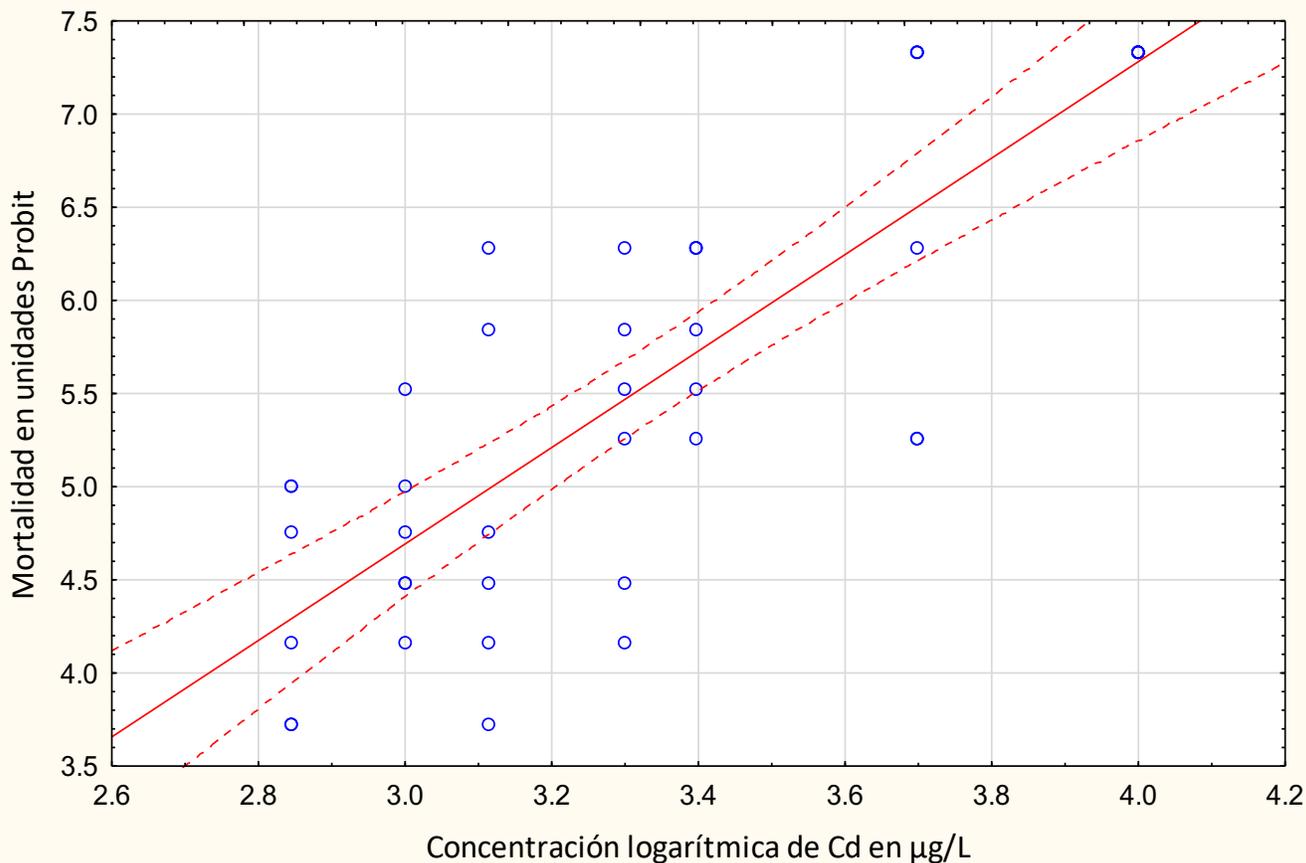
#### 8.3.2 Pruebas de toxicidad aguda de cadmio en *B. plicatilis* en medio salino a 20 ups

Se realizaron cuatro repeticiones de las pruebas letales con 7 concentraciones diferentes para determinar el rango intermedio que se utilizó para la prueba obteniendo las concentraciones de 0.7, 1, 1.3, 2, 2.5, 5, 10 mg/L siendo 10 mg/L la concentración en la cual la totalidad de los organismos mueren. Se realizó una regresión lineal y se graficaron los datos Probit utilizando el logaritmo de la concentración de Cd en microgramos por litro obteniendo ecuación de la recta,  $R^2$  y  $CL_{50}$  en pruebas realizadas a 24h (Figura 12) y 48h (Figura 13).



**Figura 12** Prueba de toxicidad letal para Cd a 20 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%

20 ups;  $y = -3.0743 + 2.589x$ ;  $r^2 = 0.686$ ;  $LC_{50} = 1.538$  mg/L; I.C. = 1.297-1.849 mg/L; Límite de confianza 0.95; 48h; N=6



**Figura 13 Prueba de toxicidad letal para Cd a 20 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%**

### **8.3.3 Pruebas de toxicidad aguda de cadmio en *B. plicatilis* en medio salino a 15 ups**

Se realizaron cuatro repeticiones de las pruebas letales con 7 concentraciones diferentes para determinar el rango intermedio que se utilizó para la prueba obteniendo así las concentraciones de 0.05, 0.1, 0.8, 1.6, 3.2, 5, 7 mg/L siendo 7 mg/L la concentración en la cual la totalidad de los organismos mueren

Se realizó una regresión lineal y se graficaron los datos Probit obteniendo que existe una relación positiva lineal entre la concentración del tóxico y la mortalidad se obtuvo la  $r^2$ ,  $CL_{50}$ , ecuación de la recta así como intervalo de confianza a 24h (Figura 14) y 48 h (Figura 15).

15 ups;  $y = -0.5491 + 1.8734x$ ;  $r^2 = 0.641$ ;  $LC_{50} = 0.897 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 0.634-1.459 mg/L; Confianza 0.95; a 24h; N=6

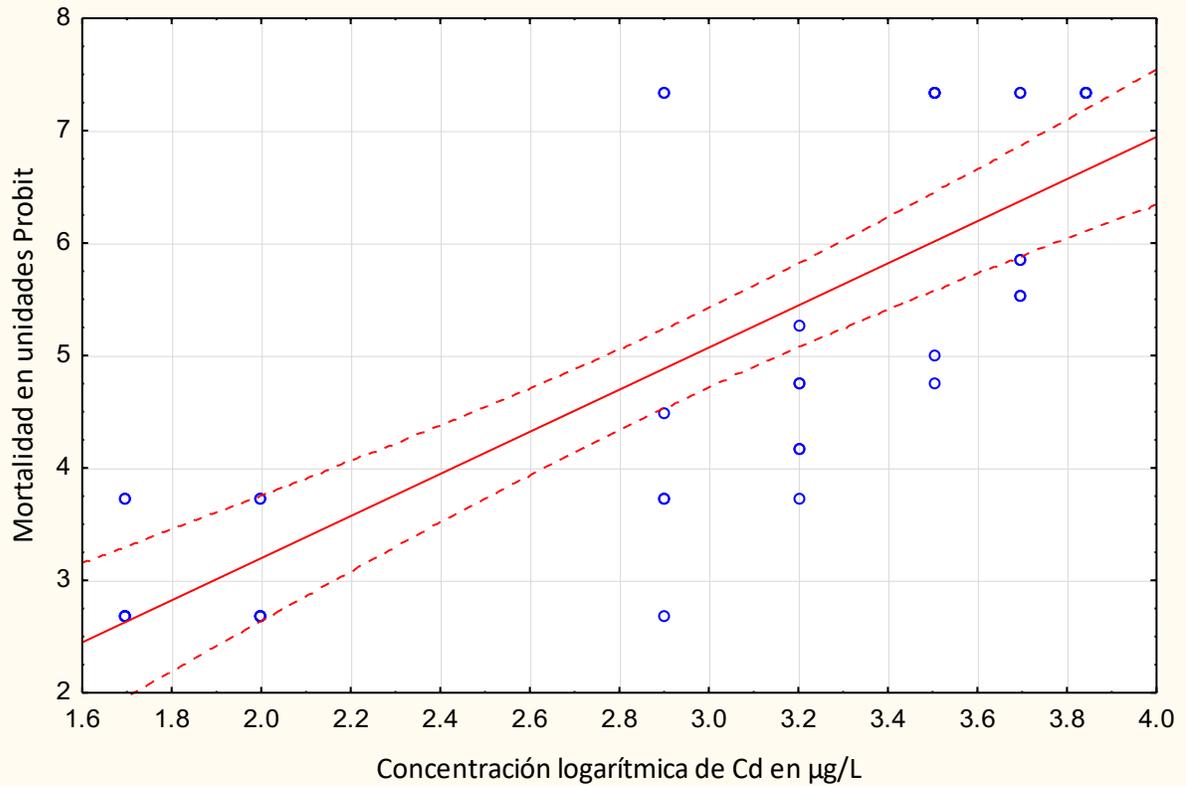
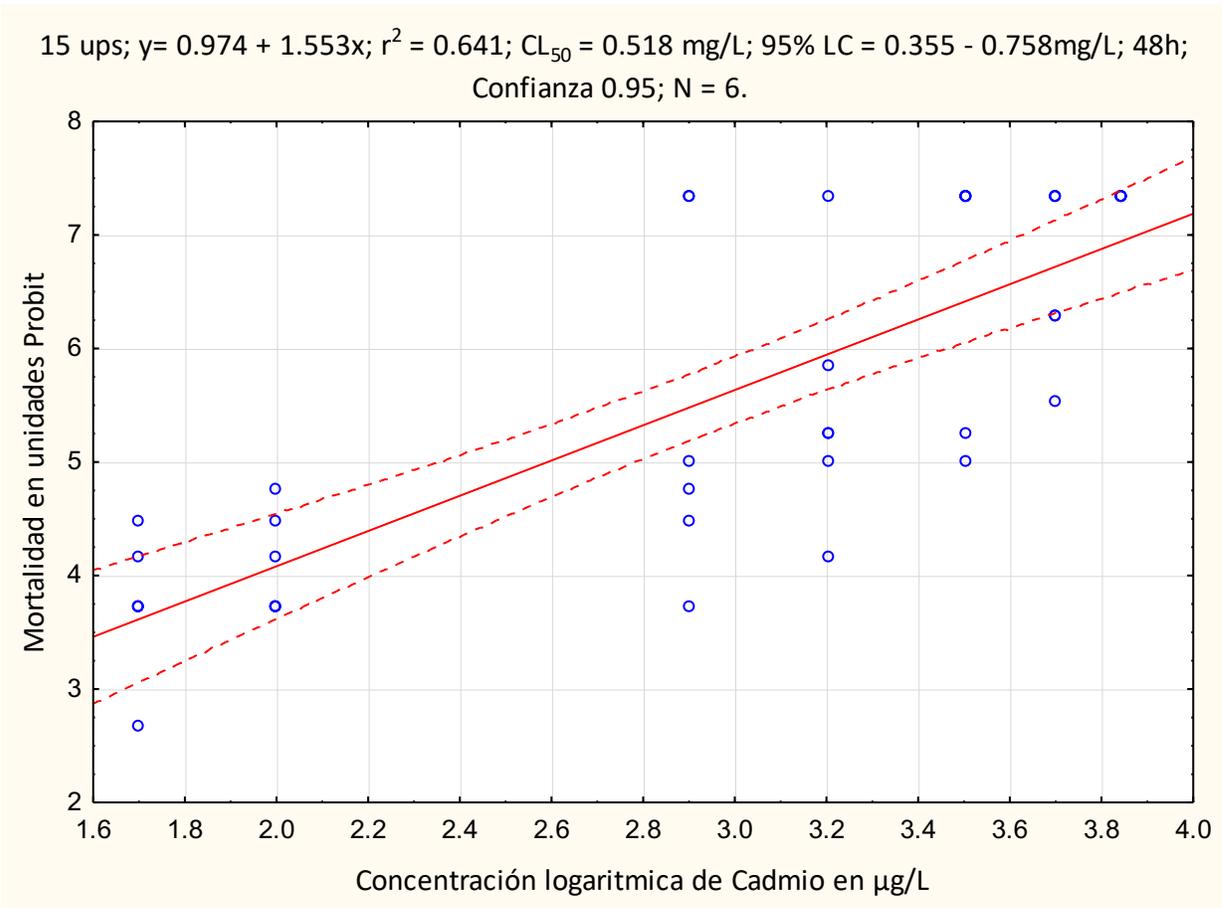


Figura 14 Prueba de toxicidad letal para Cd a 15 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%



**Figura 15 Prueba de toxicidad letal para Cd a 15 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%**

**8.3.4 Pruebas de toxicidad letal para cadmio a 10 ups**

Se realizaron cuatro repeticiones de las pruebas letales con 9 concentraciones diferentes para determinar el rango intermedio que se utilizó para la prueba obteniendo así las concentraciones de 0.8, 0.9, 1.1, 1.25, 1.3, 1.4 y 1.5 mg/L siendo 1.5 mg/L la concentración en la cual la totalidad de los organismos mueren; se realizó una regresión lineal y se graficó entre la concentración de Cd y la mortalidad obteniendo ecuación de la recta y calculando la  $CL_{50}$  a 24 h (Figura 16) y 48 h (Figura 17).

10 ups;  $y = -31.376 + 11.991x$ ;  $r^2 = 0.782$ ;  $LC_{50} = 1.0593 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 1.06 - 1.133 mg/L; 24h; Confianza 0.95, N=6

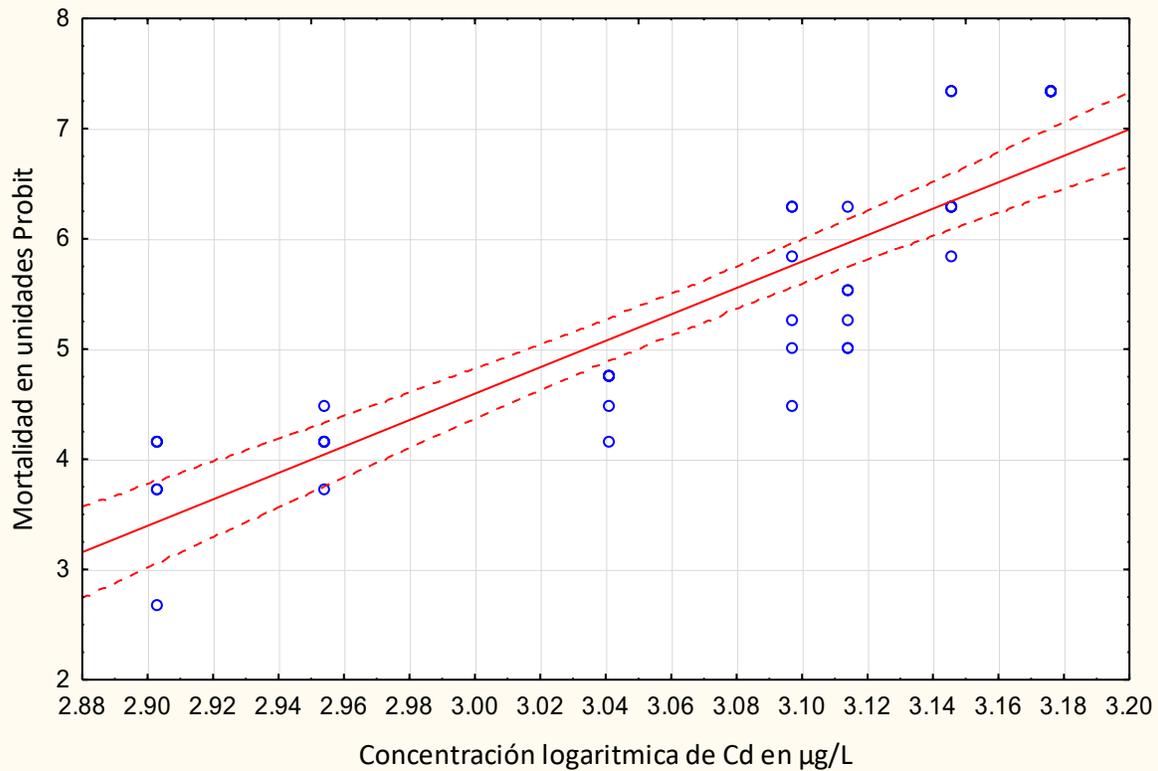
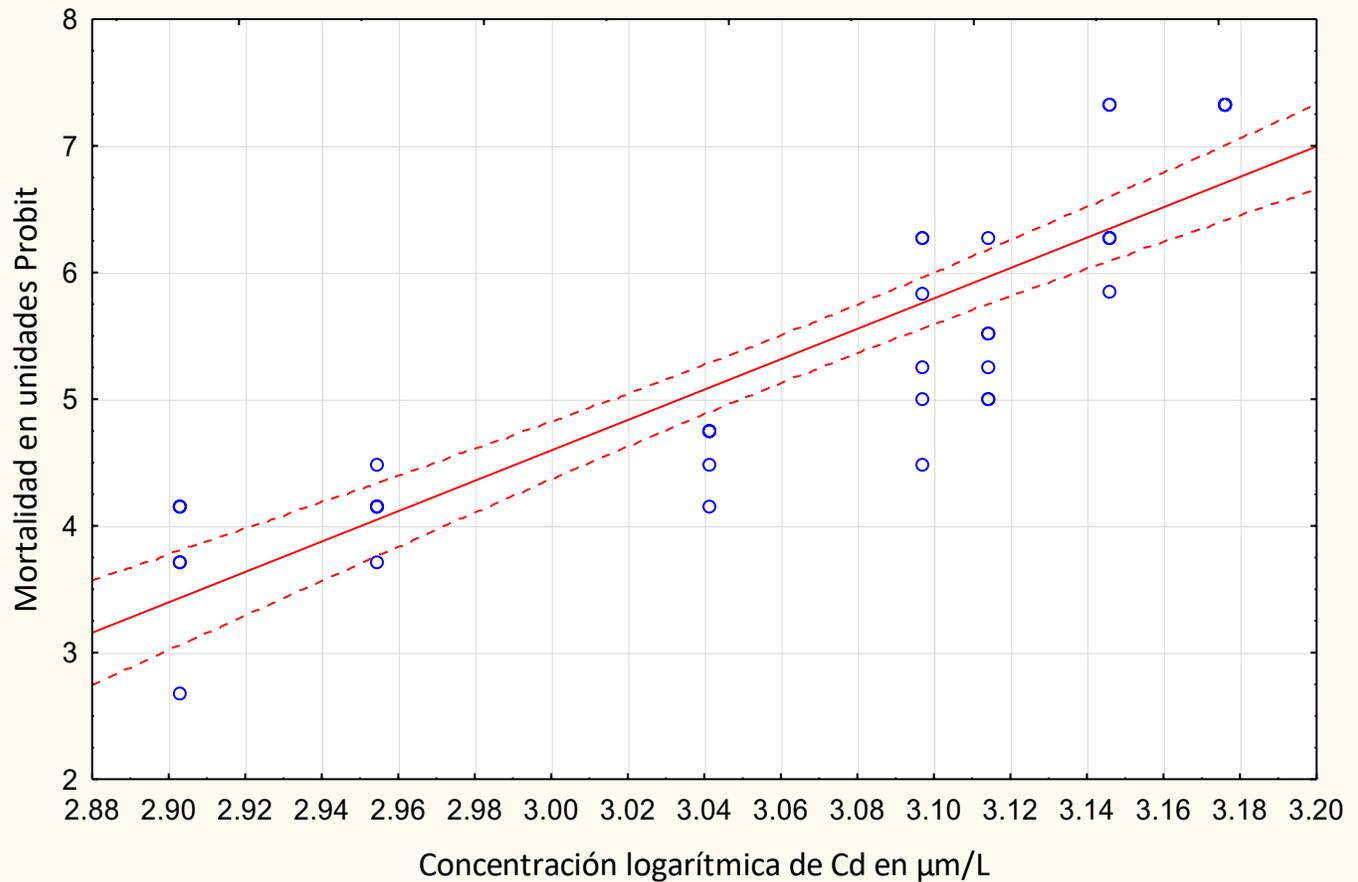


Figura 16 Prueba de toxicidad letal para Cd a 10 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95% con un intervalo de confianza del 95%

10 ups;  $y = -31.3832 + 11.993x$ ;  $r^2; 0.782$ ;  $LC_{50}$ ; 1.1 mg/L; I.C.= 1.06-1.132 mg/L; Confianza 0.95; 48 h; N=6

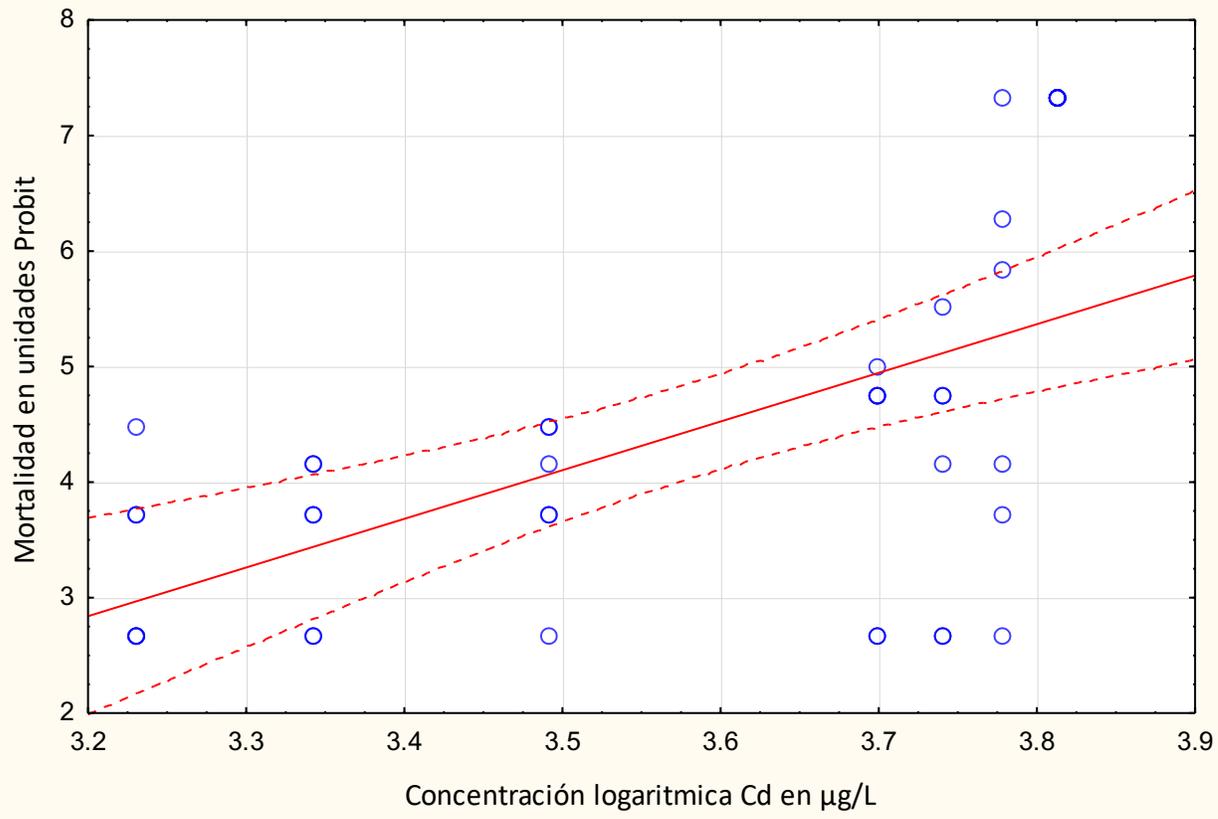


**Figura 17** Prueba de toxicidad letal para Cd a 20 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%

### **8.3.5 Pruebas de toxicidad aguda de plomo en *B. plicatilis* en medio salino a 20 ups**

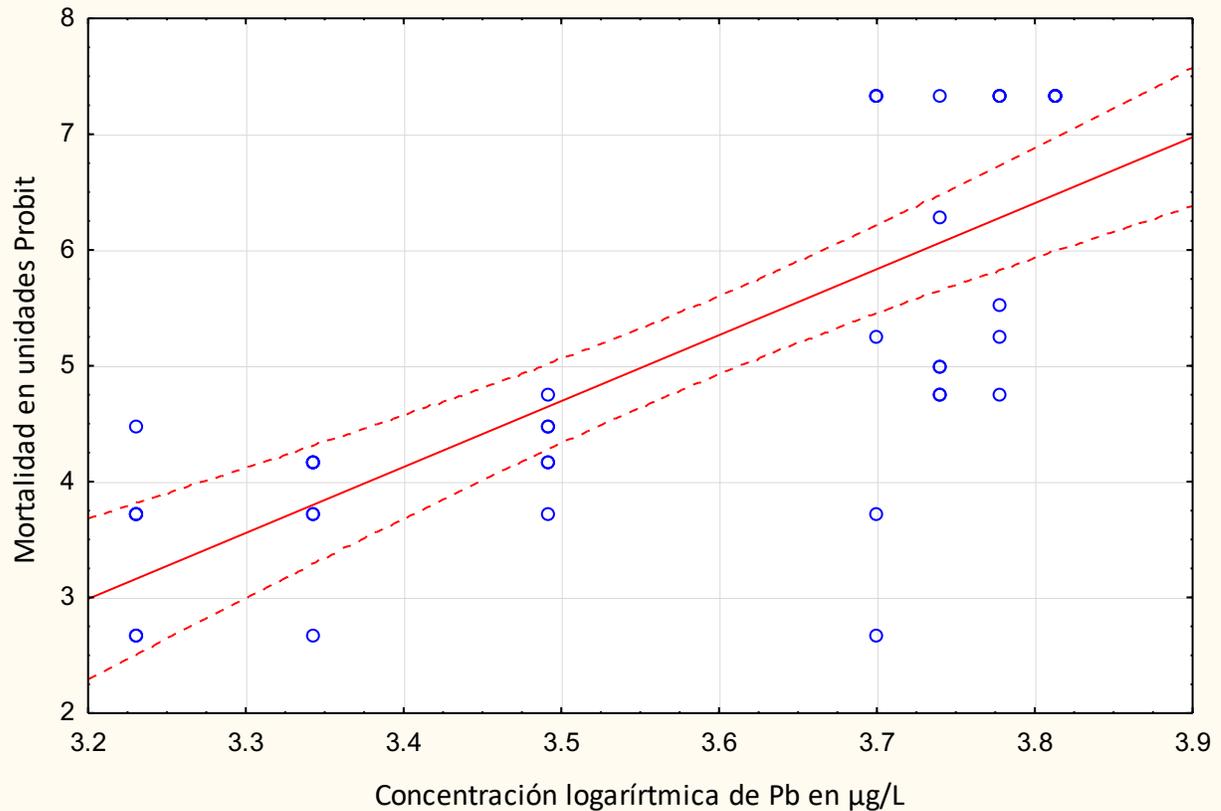
Se realizaron pruebas con diez concentraciones diferentes para determinar el rango intermedio que se utilizó para la prueba obteniendo así las concentraciones de 1.7, 2.2, 3.1, 5, 5.5, 6, 6.5 mg/L siendo 6.5 mg/L la concentración en la cual la totalidad de los organismos mueren. Se realizó una regresión lineal y se graficaron los datos Probit se obtuvo la ecuación de la recta,  $r^2$  y la  $CL_{50}$  para 24h (Figura 18) y 48h (Figura 19).

20 ups;  $y = -10.6407 + 4.2125x$ ;  $r^2 = 0.327$ ;  $LC50 = 3.627$ ;  $I.C. = 3.698 - 4.853$ ;  $Confianza = 0.95$ ; 24h;  $N = 6$



**Figura 18 Prueba de toxicidad letal para Pb a 20 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%**

20ups;  $y = -15.2431 + 5.6968x$ ;  $r^2 = 0.571$ ;  $LC_{50} = 3.69 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 3.327-4.093; Confianza 0.95; 48h  
N=6



**Figura 19 Prueba de toxicidad letal para Pb a 20 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%**

### **8.3.6 Pruebas de toxicidad aguda de plomo en *B. plicatilis* en medio salino a 15 ups**

Se realizaron pruebas de toxicidad letal con cuatro repeticiones de 10 concentraciones diferentes para poder determinar los valores intermedios que se utilizaron para las pruebas finales, se escogieron 8 concentraciones de las cuales se realizaron 6 repeticiones obteniendo así que las concentraciones seleccionadas fueron 2.2, 2.5, 3.1, 3.4, 3.5, 4, 5 y 6 mg/L.

Se analizaron los datos utilizando las unidades Probit y el logaritmo de la concentración de plomo en microgramos por litro obteniendo la  $CL_{50}$ , la ecuación de la recta y  $r^2$ , para 24h (Figura 20) y 48 h (Figura 21).

15ups;  $y = -26.4842 + 8.8268x$ ;  $r^2 = 0.664$ ;  $LC_{50} = 3.606 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 3.42-3.802 mg/L; Confianza 0.95; 24h; N=6

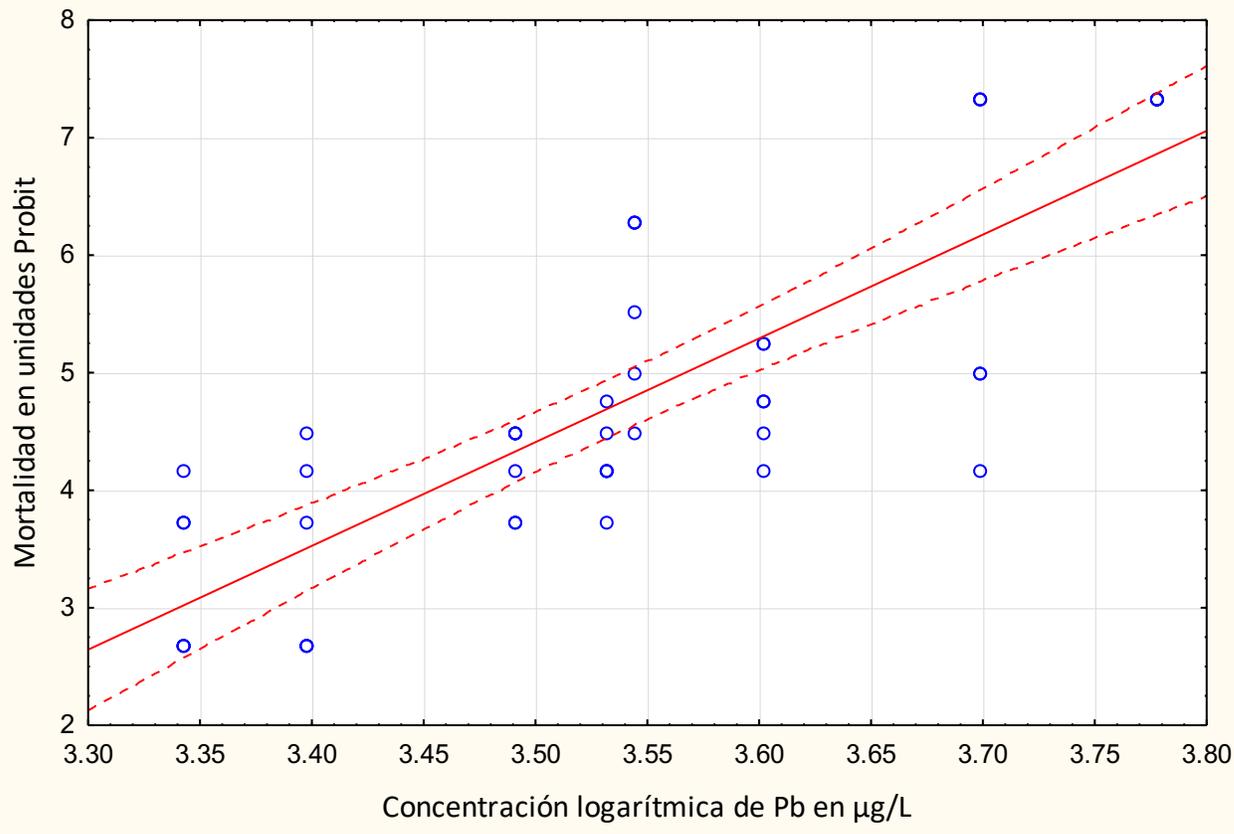
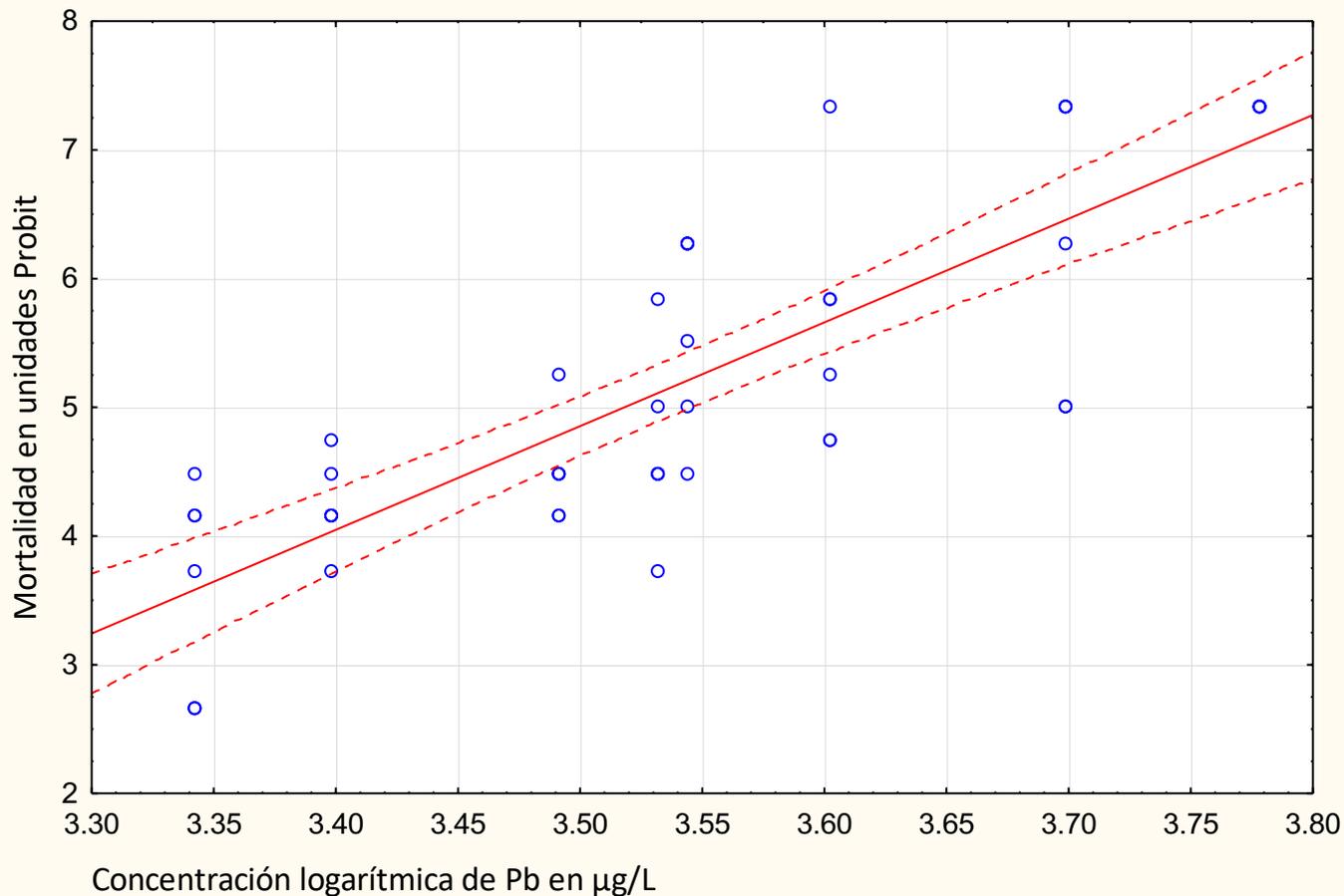


Figura 20 Prueba de toxicidad letal para Pb a 15 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%

15ups;  $y = -23.3444 + 8.0567x$ ;  $r^2 = 0.671$ ;  $LC_{50} = 3.35 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 3.177-3.524 mg/L; Confianza 0.95; 48h; N=6



**Figura 21** Prueba de toxicidad letal para Pb a 15 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%

**8.3.7 Pruebas de toxicidad aguda de plomo en *B. plicatilis* en medio salino a 10 ups**

Se realizaron pruebas con 7 concentraciones diferentes para determinar el rango intermedio que se utilizó para la prueba obteniendo así las concentraciones de 0.7, 1.4, 1.6, 1.8, 2.1, 2.8, 3.5 mg/L siendo 3.5 mg/L la concentración en la cual la totalidad de los organismos mueren.

Se realizó una regresión lineal y se graficaron los datos utilizando las unidades Probit para la mortalidad y la concentración logarítmica de plomo en microgramos por litro para 24 h (Figura 22) y 48 h (Figura 23).

10ups;  $y = -10.1797 + 4.7723x$ ;  $r^2 = 0.564$ ;  $LC_{50} = 1.614 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 1.432-1.82 mg/L; Confianza 0.95; 24h; N=6

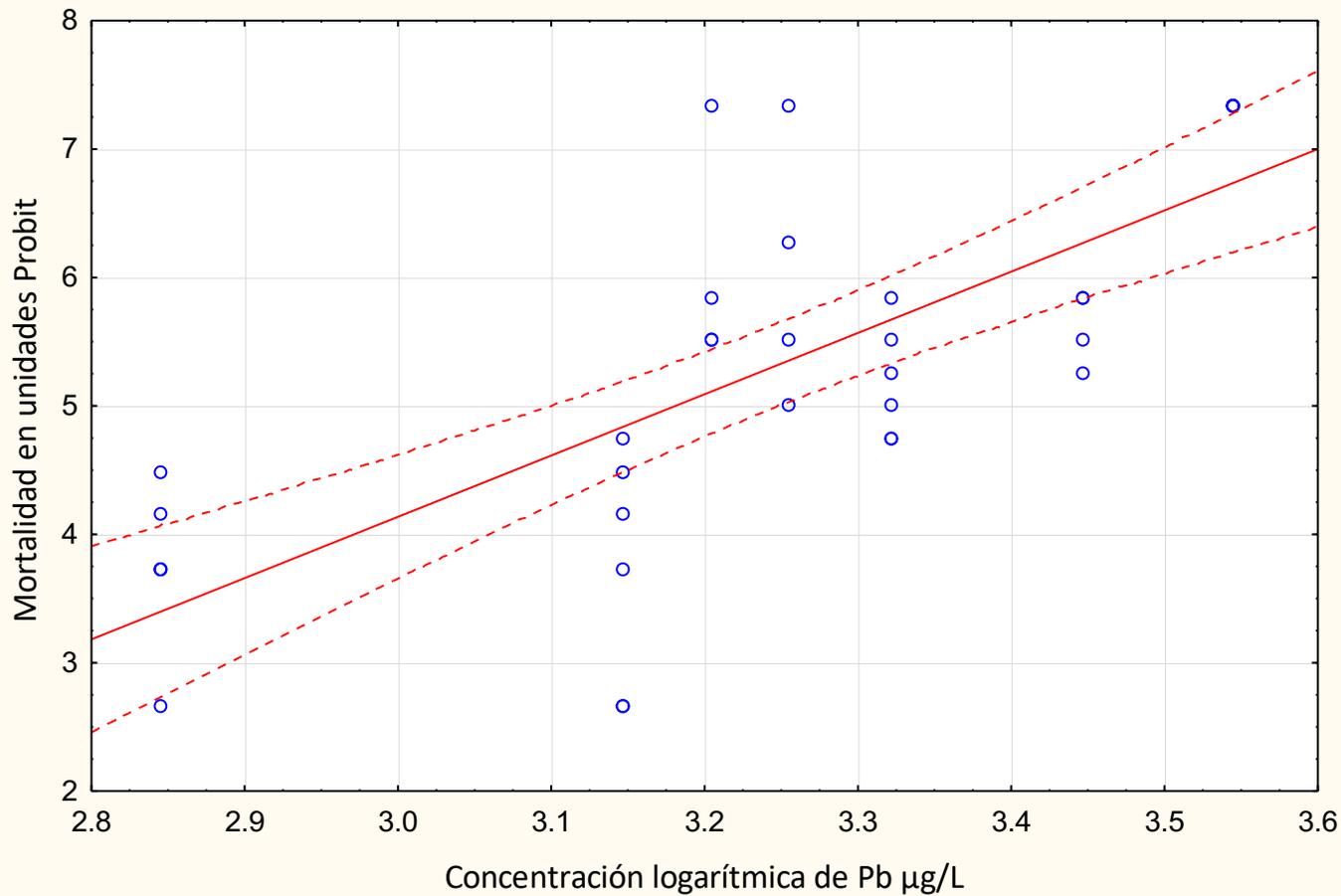
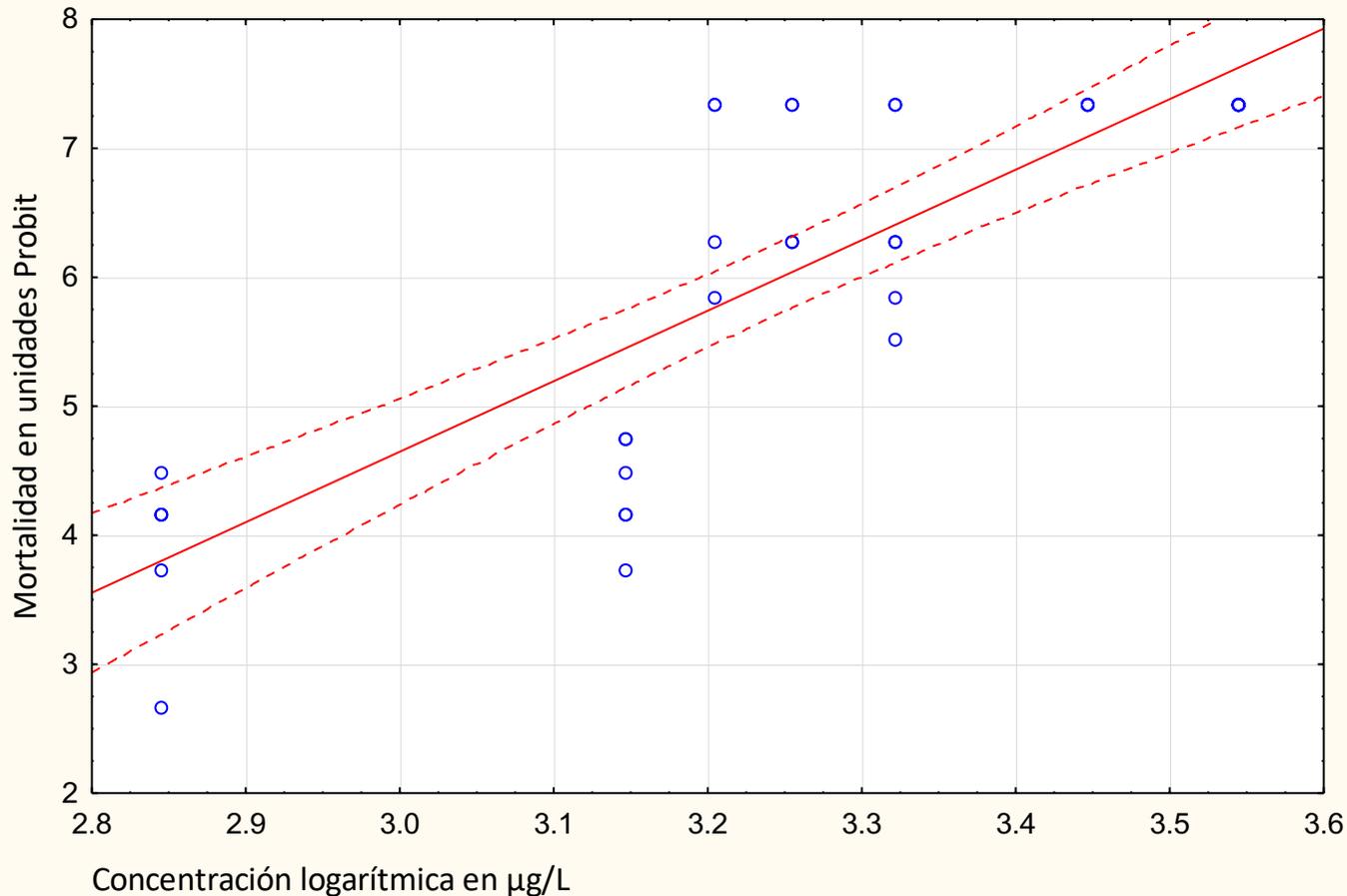


Figura 22 Prueba de toxicidad letal para Pb a 10 ups en un tiempo de 24h con un intervalo de confianza del 95%

10ups;  $y = -11.7486 + 5.4654x$ ;  $r^2 = 0.7$ ;  $LC_{50} = 1.312 \text{ mg/L}$ ; I.C. = 1.167-1.476 mg/L; Confianza 0.95; 48h; N=6



**Figura 23** Prueba de toxicidad letal para Pb a 10 ups en un tiempo de 48h con un intervalo de confianza del 95%

**8.3.8 Efecto de la salinidad en la toxicidad por Cd y Pb**

Existe una relación entre la salinidad y los efectos de la toxicidad en la mortalidad ocasionada por cadmio (Tabla 2) y para plomo (Tabla 4).

**8.3.9 Efecto de la salinidad en la toxicidad por Cd**

La salinidad que tiene una menor influencia en el efecto tóxico del cadmio es 20 ups mientras que 15 ups y 10 ups no tienen una diferencia significativa entre ellas (tabla 3).

**Tabla 2 Análisis ANOVA del efecto de la salinidad en la toxicidad por Cd**

Factor	SS (suma de los cuadrados)	Grados de libertad	Media de los cuadrados	F	P
Salinidad	2.59	2	1.295	7.009	<b>0.007</b>

**Tabla 3 Análisis de confianza de Tukey para evaluar la diferencia significativa del efecto de la salinidad sobre CL50**

	Media 10 ups LC <sub>50</sub> en mg/L	Media 15 ups LC <sub>50</sub> en mg/L	Media 20 ups LC <sub>50</sub> en mg/L
Salinidad (ups)	1.084	0.54	1.464
10		0.105	0.305
15	0.105		<b>0.006</b>
20	0.305	<b>0.006</b>	

**8.3.10 Efecto de la salinidad en la toxicidad por Pb**

Mientras que, en el caso de la influencia de la salinidad en la toxicidad por plomo se observó que 10 y 20 ups fueron diferentes en una comparación de medias con una tabla ANOVA a 15 ups, siendo ésta, donde existe una mayor tolerancia al tóxico debido a que tiene una media más alta (tabla 4).

**Tabla 4 Análisis ANOVA del efecto de la salinidad en la toxicidad por Pb**

Factor	SS (suma de los cuadrados)	Grados de libertad	Media de los cuadrados	F	P
--------	----------------------------	--------------------	------------------------	---	---

Salinidad	3.806	2	1.903	5.123	<b>0.02</b>
-----------	-------	---	-------	-------	-------------

**Tabla 5 Análisis de confianza de Tukey para evaluar la diferencia significativa del efecto de la salinidad sobre  $LC_{50}$  a Pb con un intervalo de confianza del 95%**

Factor	SS (suma de los cuadrados)	Grados de libertad	Media de los cuadrados	F	P
salinidad	3.806	2	1.903	5.123	0.02

	Media 10 ups $LC_{50}$ en mg/L	Media 15 ups $LC_{50}$ en mg/L	Media 20 ups $LC_{50}$ en mg/L
Salinidad	1.115	2.131	1.155
10		<b>0.036</b>	1
15	<b>0.036</b>		<b>0.036</b>
20	1	<b>0.036</b>	

### 8.4 Pruebas crónicas

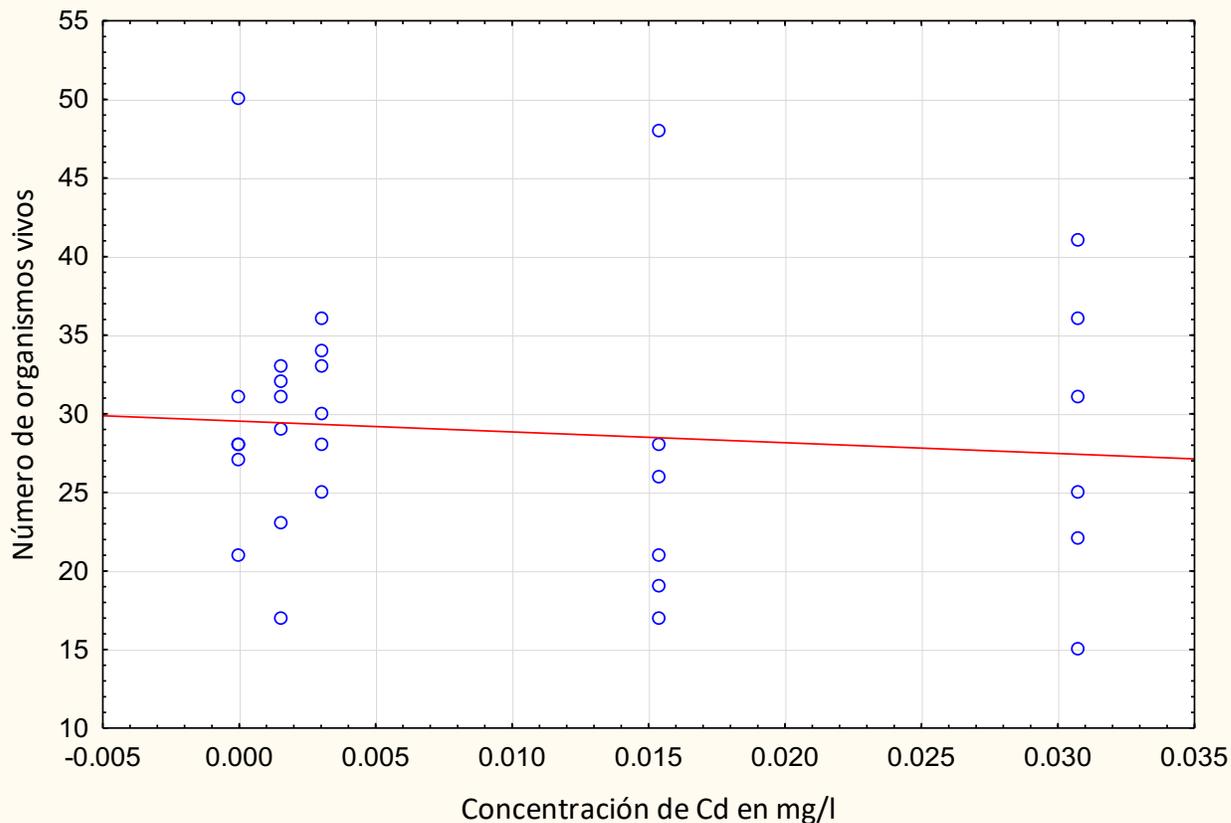
#### 8.4.1 Pruebas crónicas de Cd a 72h

Se realizaron 6 repeticiones de cada una de las siguientes concentraciones de 0.001538 (1/1000), 0.003076 (1/500), 0.01538 (1/100) y 0.03076 (1/50) mg/L Calculado a partir de la  $LC_{50}$ :1.538 mg/L a 48h.

No existe una diferencia significativa entre las variables ya que se obtuvo un valor de  $p = 0.153787$  y una  $R^2$  poco significativa de  $R^2 = 0.059$ .

A pesar de eso se realizó una regresión lineal (Figura 24) en la cual no se encontró una correlación entre la concentración del tóxico y el número de organismos vivos.

Prueba de toxicidad crónica a 72h N=6 R<sup>2</sup>= .05890697 p = 0.153787. Concentración del alimento es de 49,990 células por mililitro.  $y = 29.5304 - 68.6718 * x$



**Figura 24** Regresión lineal entre la concentración del tóxico y el número de organismos vivos con un intervalo de confianza del 95%

De igual manera se realizó un Análisis de Tukey (tabla 6) en el cual una vez se puede comprobar que no existe una diferencia significativa entre ninguno de los tratamientos.

**Tabla 6** Test de Tukey con un intervalo de confianza del 95%

Análisis de Tukey HSD número de organismos vivos después de 72h						
Error: = 71.750, df = 30.000						
0		0.982717	1.000000	0.946992	0.995393	0.968225
1	0.982717		0.978572	0.999949	0.999979	0.687918

2	1.000000	0.978572		0.938241	0.993760	0.973752
3	0.946992	0.999949	0.938241		0.998977	0.561190
4	0.995393	0.999979	0.993760	0.998977		0.785384
5	0.968225	0.687918	0.973752	0.561190	0.785384	

Finalmente se realizó una prueba para comprar las medias del control contra la concentración de 0.03076 mg/L (1/50). En la cual tampoco se encontró una diferencia significativa ya que se acepta la hipótesis nula (tabla 7).

**Tabla 7 Prueba z para dos medias con un intervalo de confianza del 95%**

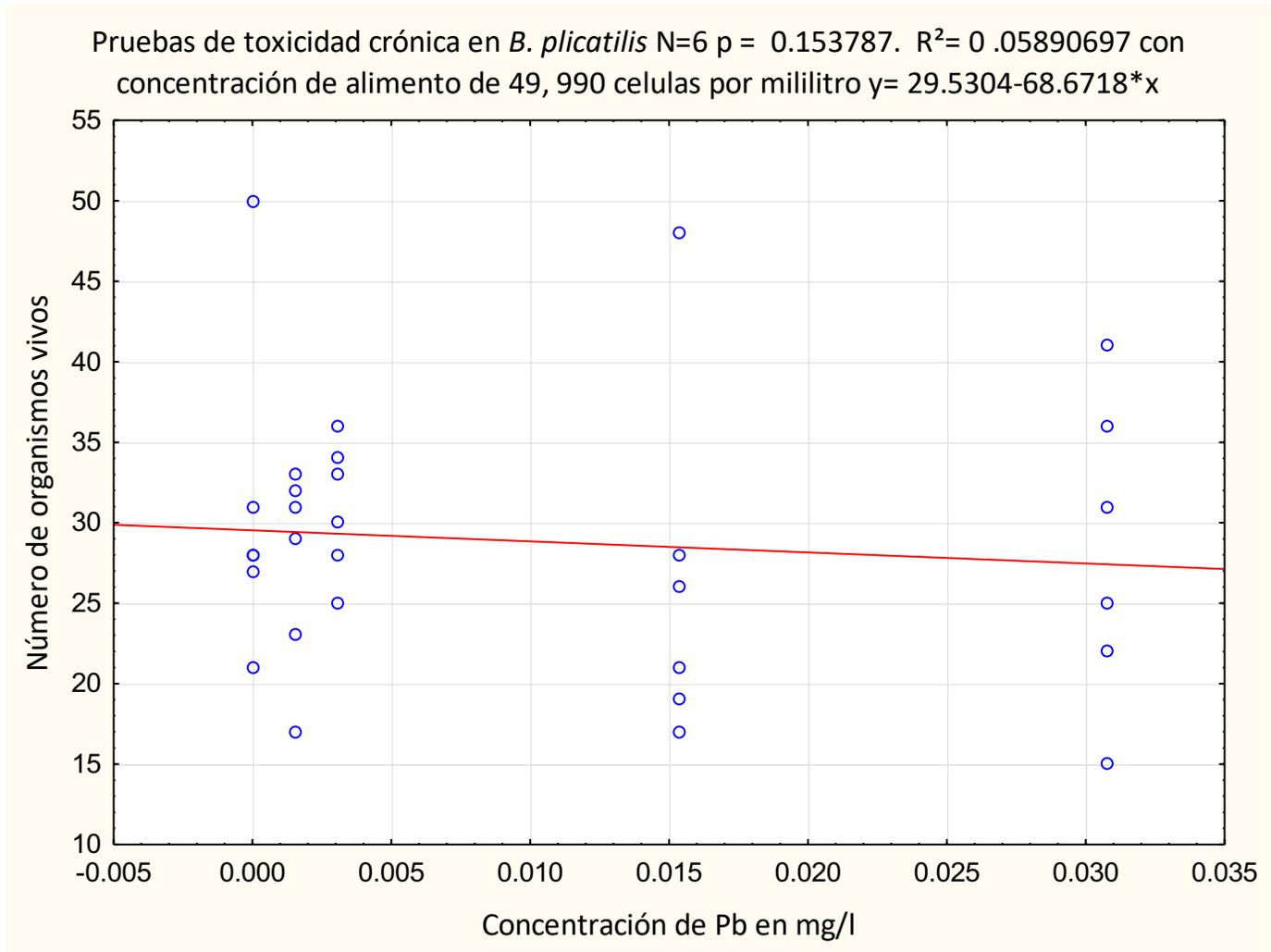
Prueba z para medias de dos muestras

	<i>Variable</i>	
	<i>Variable 1</i>	<i>2</i>
Media	30.8333333	33.8
Varianza (conocida)	82	47
Observaciones	6	5
Diferencia hipotética de las medias	0	-
Z	0.61769819	
P(Z<=z) una cola	0.26838715	
Valor crítico de z (una cola)	1.64485363	
Valor crítico de z (dos colas)	0.5367743	
Valor crítico de z (dos colas)	1.95996398	

**8.4.2 Pruebas crónicas de Pb a 72h**

Se realizaron las pruebas crónicas para plomo 72h con 6 repeticiones por cada concentración 0.00369 (1/1000), 0.00738 (1/500), 0.0369, (1/100), 0.738 y (1/50). basadas en la LC<sub>50</sub> =3.69 mg/L a 48h. Se obtiene que p = 0.153787. y una R<sup>2</sup>= 0.05890697 por lo que

en este primer análisis no se obtiene una diferencia significativa entre las variables obteniendo de todas maneras una regresión lineal (Figura 25).



**Figura 25** Regresión lineal entre la concentración de Pb y el número de organismos vivos con un intervalo de confianza del 95%

Anudado a eso se realizó una prueba de Tukey (tabla 8) en la cual aparentemente no existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos.

**Tabla 8** Análisis de Tukey para Pb

Análisis de Tukey HSD número de organismos vivos después de 72h
Error: entre MS = 41.150, df = 30.000

0		0.329366	0.564233	0.994054	0.227499	0.729614
1	0.329366		0.998502	0.125984	0.999918	0.983459
2	0.564233	0.998502		0.265252	0.987866	0.999799
3	0.994054	0.125984	0.265252		0.078998	0.401810
4	0.227499	0.999918	0.987866	0.078998		0.943516
5	0.729614	0.983459	0.999799	0.401810	0.943516	

Se realizó una prueba de comparación de medias de z (tabla 9) donde se obtuvo que con un  $P(Z \leq z)$  de= 0.01914516 podemos decir que existe una diferencia significativa entre la media del control y media de organismos vivos en la concentración de 1/50 que es de 0.738 mg/L

**Tabla 9 Prueba z para medias de dos muestras comparando el control con la concentración de 0.738 mg/L (1/50)**

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	35.833	27.333
Varianza (conocida)	73	28
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Z	2.072	
$P(Z \leq z)$ una cola	<b>0.019</b>	
Valor crítico de z (una cola)	1.645	
Valor crítico de z (dos colas)	0.03829031	
Valor crítico de z (dos colas)	1.96	

## 9. Discusión de resultados

### 9.1 Medio Instant Ocean®

Se comenzaron a realizar las pruebas de toxicidad aguda en el Instituto Tecnológico de Boca del Río Veracruz (ITBOCA), las primeras pruebas se tuvieron que rechazar ya que los controles no lograban sobrevivir 24h por lo cual se comenzaron a implementar medidas

extra para la mejora del cultivo, es probable que el manejo de las hembras fuera muy agresivo ya que se agitaban para que “soltaran” los huevos y el medio no se aireaba por lo que existía una falta de oxígeno disuelto en el medio.

Como medio de control para la calidad de los cultivos, se realizaron pruebas de controles hasta que los organismos lograron sobrevivir 48 horas previo a la aplicación de pruebas, aunque no se siguió un protocolo específico para evaluar la calidad del cultivo (Snell y Persoone, 1989). Por lo que se propone realizar pruebas de referencia en los cultivos, ya sea que se utilice f NaPCP (por sus siglas en ingles sodium pentachlorophenate) como lo propone el protocolo de Snell y Persoone, 1989).

En el Laboratorio de Alimento Vivo se utilizó agua desionizada en lugar de agua destilada para el cultivo de los organismos; se aireó el medio de 24 a 48 horas, esto con la finalidad de introducir más oxígeno al medio y de disolver por completo las sales. En la etiqueta del producto Instant Ocean<sup>®</sup> señala la importancia de airear el medio, no menciona un tiempo específico en el cual se alcancen las condiciones de oxígeno adecuadas ya que estas varían dependiendo de la finalidad del medio, por lo que también menciona la importancia de medir el oxígeno disuelto antes de utilizar el medio.

## **9.2 Cultivo alimento**

Se le dio como alimento principal *Tetraselmis suecica* debido a sus cualidades eurihalinas (Guiry et al., 2020), posteriormente se les comenzó a dar *Nannochloropsis oculata* para complementar su alimento, ésta es una combinación recomendada para el cultivo de rotíferos que se utilizan como alimento en la acuicultura (Hemaiswarya et al., 2011). Se realizaron pruebas de controles hasta que los organismos lograron sobrevivir 48 horas.

Las variables que se modificaron para poder lograr un cultivo de calidad fue la aireación del medio por menos por 24h y la implementación de un manejo menos agresivo con las hembras y sus huevos.

Después de que los controles lograran sobrevivir 48h, se les dio únicamente *Tetraselmis suecica* y en el laboratorio de toxicología acuática se utilizó agua destilada.

### 9.3 Realización de pruebas

Se escogió entre 4 y 6 concentraciones de cadmio y plomo de las cuales se realizaron 6 repeticiones de cada una en cada una de las salinidades (10, 15, 20 ups).

Las repeticiones de las pruebas letales se realizaron ambos laboratorios por lo que se realizaron en diferentes fechas y cada una de las repeticiones fue sometida a variables de las cuales no se consideraron como las diferencias en los cultivos, las temperaturas y la altura con respecto al nivel del mar.

Ya que las repeticiones que se hicieron en el LAV no se mantuvieron en una incubadora que mantuviera una temperatura o un fotoperiodo constante y la altura es de 10 m al nivel del mar.

Mientras que otras pruebas se realizaron en la LTA, existió una temperatura constante de 25 °C con un fotoperiodo de 16:8. el clima, y la altitud es de 1, 888 m sobre el nivel del mar entre otros factores representaron variantes que no se cuantificaron.

La selección de concentraciones no siguió ningún patrón o algoritmo determinado por lo que la selección de concentraciones es diferente y no tiene relación entre las pruebas realizadas a 20, 15 y 10 ups cuanto a la selección de las concentraciones.

La salinidad que tiene una menor influencia en el efecto tóxico del cadmio es 20ups mientras que 15 ups y 10 ups no tienen una diferencia significativa entre ellas. Un estudio previo realizado en *Brachionus plicatilis* cepa de Alvarado se determinó que el cultivo tiene una mayor tasa de crecimiento a 15 ups y a 25 °C (Moha-León et al., 2015) esto pudiera explicar el por qué tienen una mayor tolerancia al tóxico en la salinidad donde se observó que el cultivo está en condiciones óptimas de crecimiento.

Existen notables diferencias de los autores con respecto al CL<sub>50</sub> de cadmio en el rotífero *Brachionus plicatilis* ya que reportan una concentración de 56.8 mg/L (Snell y Persoone,

1989 como se citó en Snell y Janssen, 1995) ya que este sobrepasó por mucho los reportados por otros autores, mientras que reporta que la concentración de CL<sub>50</sub> de 0.12 mg/L. Existe una notable diferencia entre los resultados obtenidos de la CL<sub>50</sub> de Cd en *B. plicatilis* cepa Alvarado (a 15 y 20 ups), y otros autores la CL<sub>50</sub> obtenida es de 0.518 mg/L y 2.03 mg/L (15 y 20ups respectivamente), mientras que, la CL<sub>50</sub> de cadmio en el rotífero *Brachionus plicatilis* es de 56.8 mg/L. (Snell y Persoone en 1989 como se citó en Snell & Janssen, 1995).

Al ser un complejo de especies es posible que las diferentes cepas de los organismos están adaptadas a las condiciones ambientales de los sitios donde fueron colectadas por lo que es importante determinar los estándares particulares de *B. plicatilis* cepa Alvarado. Por ejemplo, Arreguin Rebolledo et al., (2018), midieron la tasa de crecimiento de la población de *B. plicatilis* del sistema lagunar del Estuario de Urías en Mazatlán, Sinaloa cuya salinidad ideal es de 10 ups. Se determinó que la temperatura y salinidad ideal fue la cepa de cultivo de *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca, Perú, fue de 30 °C y 15 o 25 ups respectivamente.

En cuanto a la temperatura y salinidad óptima en los cultivos, estos pueden variar según sean las condiciones del lugar de origen de la cepa (Rosales-Barrantes, 2012).

La cepa Alvarado fue cultivada en tres niveles de salinidad con la finalidad de realizar tablas de vida donde se demostró que para el cultivo en laboratorio la salinidad ideal de los organismos es de 15 ups pero son viables de entre el 5ups y el 20ups de salinidad (Moha-León et al., 2015). La temperatura y salinidad óptima encontrada en un estudio sobre otra cepa de cultivo de *Brachionus* sp. Cayman cepa Chilca, Perú fueron los 30 °C y 15 o 25 ups respectivamente (Rosales Barrantes, 2012) *B. plicatilis* colectada en de una granja de camarones cerca de una laguna costera dentro del sistema lagunar del Estuario de Urias en Mazatlán, Sinaloa creció mejor a 10ups de salinidad (Rebolledo et al., 2018).

Afortunadamente, existe un estudio realizado en *Brachionus plicatilis* cepa de Alvarado en la cual se determinó que el cultivo con una mayor tasa de crecimiento se daba a 15 ups (Moha-León et al., 2015).

Las tasas de crecimiento de la población de *P. similis* fueron mayores a 20 ups mientras que *B. plicatilis* creció mejor a 10 ups de salinidad. *P. similis* aunque es considerado eurihalino,

se sabe que a salinidades superiores a 30 ups organismos requieren más energía en el proceso osmótico priorizándolo sobre la reproducción; sin embargo algunos cultivos de *B. plicatilis* pueden llegar a valores más elevados de salinidades de 10 a 60 ups la tolerancia depende de las características del cuerpo de agua donde se originan los taxones (Rebolledo et al., 2018).

Arreguin-Rebolledo et al, (2021) evaluaron el efecto de la salinidad y la temperatura sobre la toxicidad aguda, crónica y la competencia ocasionada por arsénico a los rotíferos marinos *Proales similis* y *Brachionus ibericus* encontrando que *Brachionus ibericus* es menos sensible al arsénico. El efecto de la salinidad fue evaluado a 10, 20 y 30 ups y la temperatura a 25 y 32 °C sobre el arsénico en pruebas agudas y crónicas; salinidades altas en conjunto con temperaturas bajas resultó en una menor toxicidad por arsénico, por lo general se espera que a menor salinidad el efecto tóxico de los metales pesados incremente. Se han realizado evaluaciones donde se estudian tanto los efectos de las concentraciones de un solo metal como la mezcla de estos encontrando en *Proales similis*. Se intensificó la toxicidad mientras la salinidad disminuyó, siendo a 5 ups la salinidad con mayores efectos tóxicos (Arreguin-Rebolledo et al., 2021).

Jeong et al, (2023) realizaron una revisión de estudios individuales y mixtos de los metales pesados en invertebrados acuáticos donde señala que *Brachionus calicyflorus* es el organismo más sensible a cadmio y plomo, la CL<sub>50</sub> de *B. calicyflorus* para plomo fue de .00042 mg/L en el rotífero *B. calicyflorus* para cadmio fue de 0.0085 mg/L.

Dentro de los retos que existieron al trabajar con estos organismos vivos fue el crecimiento de un hongo no identificado se encontró en pruebas desde 1mg/L hasta 20mg/L. Algunos hongos pueden crecer en presencia de metales pesados y por lo tanto encontrarse en medios contaminados con metales como es el caso de hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* (Hidalgo et al., 2022; Navarro Moreno et al., 2022) *Paecilomyces* (Navarro Moreno et al., 2022) y *Fusarium* (Hidalgo et al., 2022). Estos contaminaron las pruebas y el crecimiento de las algas.

#### 9.4 Pruebas de toxicidad crónica

Determinar la tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ), es una medida ecológica muy importante ya que se utiliza para estimar el crecimiento potencial de una población. Snell y Moffat, 1991 evaluaron 11 tóxicos diferentes donde se realizó una prueba de toxicidad crónica de dos días a *Brachionus calyciflorus* para determinar la tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ) dentro del cual el cadmio tuvo una CNOE de 0.04 mg/L y una CMOE de 0.08 mg/L y el valor crónico de 0.06 mg/L.

Se obtuvo que los organismos no fueron sensibles a concentraciones bajas de tóxico por lo cual la  $CE_{50}$  debe estar más cerca de la  $LC_{50}$  calculada previamente en la cepa Alvarado.

Considerando la prueba de comparación de medias de "z" para el cadmio se obtuvo que no existe una diferencia significativa entre la media del control y media de organismos vivos en la concentración <0.03076 mg/L (1/50) lo cual es considerablemente cercano, pero debajo de a lo reportado por dicho autor en algunos otros metales como el Cd para el rotífero *B. calyciflorus*  $EC_{50}$  es de 0.07mg/L y un CNOE de 0.04 mg/L (Snell y Molfat, 1992 en Snell & Janssen, (1995). Específicamente en para *B. plicatilis* la  $EC_{50}$  es de 1 mg/L para el cadmio compartiendo esta cifra con la concentración mínima de efecto observable (Juchelka y Snell, 2015 como se citó en Snell y Janssen, 1995), uno de los motivos de por qué no se obtuvo una diferencia significativa entre el control y las concentraciones más baja de cadmio se debe a que las concentraciones efectivas están en concentraciones más altas.

Para el plomo sí se obtuvo que a una concentración de 0.738 mg/L existe una diferencia significativa entre la comparación de la media de los controles considerando a los organismos vivos después de 72h, sin embargo, debido a que no se pudo probar normalidad de los datos y a que ninguna otra prueba lo pudo comprobar, no se pueden considerar como definitivos estos resultados.

La especie es poco sensible al tóxico en concentraciones bajas del mismo con respecto a la tasa de reproducción.

Es necesario la realización de más estudios con concentraciones más altas e incluso con otras variables como el alimento, la calidad del medio, etc.

De igual manera dentro de las reflexiones en torno el presente trabajo resaltó la importancia de la estabilidad de los cultivos ya que se puede decir que la cepa Alvarado que, aunque ya estaba establecida y aclimatada a las condiciones del Laboratorio de Alimento Vivo en realidad tiene poco tiempo de estar establecida en el Laboratorio de Toxicología Acuática en Aguascalientes donde algunas de las condiciones fueron inevitablemente diferentes.

Por lo que es importante considerar en realizar un estándar para medir la calidad de la población de los organismos, así como proponer un tóxico para la realización de estas el cual no sea tan tóxico.

## **10. Conclusiones**

La salinidad fue un factor significativo estadísticamente en la relación entre la concentración de cadmio y plomo y la mortalidad de *Brachionus plicatilis* cepa Alvarado.

No existe una influencia significativa entre el número de organismos vivos después de 72h a una concentración de  $<0.03076$  mg/L y los controles.

Existe una influencia significativa entre el número de organismos vivos después de 72h y la concentración de 0.738 mg/L y los controles.

### **10.1 Salinidad en el efecto de la toxicidad por cadmio a 48h**

Para la toxicidad por cadmio se observó que la salinidad influye de forma significativa en el efecto tóxico del cadmio es 20ups, siendo la salinidad donde se tiene una  $CL_{50}$  más alta de 1.538 mg/L a 48h

La concentración de la salinidad tuvo un efecto igual en la mortalidad a 10 ups y a 15 ups con una  $CL_{50}$  de 0.518 y 1.1 mg/L; respectivamente.

### **10.2 Influencia de la salinidad en la toxicidad por plomo a 48h**

Mientras que, en el caso de la influencia de la salinidad en la toxicidad por plomo se observó que 10 y 20 ups fueron diferentes a 15 ups, siendo ésta, donde existe una mayor tolerancia al tóxico con una  $CL_{50}=3.606$  mg/L.

La  $CL_{50}$  de Cd para *B. plicatilis* va desde un límite inferior a 0.355 mg/L, hasta un límite superior de 1.849mg/L, considerando todas las salinidades evaluadas, mientras que el del plomo es de 1.167 mg/L hasta 4.853 mg/L.

En las pruebas crónicas el plomo tiene un efecto significativo en la diferencia de las medias comparadas entre los controles y la concentración de 0.738 mg/L.



## 11.Glosario

**Bioacumulación:** Se refiere al aumento de la concentración de alguna toxina o sustancias químicas en los organismos vivos, estos los bioacumulan solo si la cantidad tóxica ingerida excede la cantidad necesitada por el organismo o bien si esta excede la cantidad que es expulsada naturalmente o bien tratada por el sistema de defensa del organismo.

**Cadena trófica:** Es un diagrama representativo que muestra cómo se transfiere la energía y la materia entre los seres vivos de un dentro de un ecosistema.

**Colinesterasas:** Son un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de los ésteres de la colina, estas son la acetilcolinesterasa y la pseudocolinesterasa.

**Conexinas:** Son proteínas que forman canales de comunicación entre células que son vecinas, las cuales permiten el intercambio de sustancias como por ejemplo el sodio y potasio.

**Corona:** dentro de los rotíferos la corona es un órgano que los distingue de todos los demás metazoos la corona también está involucrada en los movimientos metacronales de los cilios en el aparato rotacional anterior este da la ilusión de dos ruedas giratorias.

**Distribución:** La distribución de las especies es el área geográfica donde está presente una especie.

**Diversidad:** La diversidad de especies expresa la riqueza o el número de especies diferentes que están presentes en determinada área

**Especies reactivas:** Son moléculas inestables (que contienen comúnmente oxígeno o nitrógeno) y que se forman como subproducto del metabolismo celular. Se trata de radicales libres que pueden reaccionar con otras moléculas de la célula, como el ADN, el ARN y las proteínas.

**Eurihalino:** se consideran a los organismos como eurihalinos cuando son capaces de vivir en medios acuáticos los cuales poseen un amplio rango de concentración salinas. Esto permitiendo que el organismo viva de forma natural.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Filo Rotífera: parte importante del zooplancton y ya que pueden habitar prácticamente cualquier cuerpo de agua, tienen una tasa de reproducción muy alta, un ciclo de vida corto su forma principal de reproducción es partenogenética por lo que la casi absoluta La corona distingue a los rotíferos de todos los demás metazoos, y los movimientos metacronales de los cilios en el aparato rotacional anterior, da la ilusión de dos ruedas giratorias, lo cual es una de las características que distingue a los organismos pertenecientes a este grupo. También tienen propágulos los cuales son quistes encapsulados únicos, los cuales tienen una cáscara dura y duraderos en el grupo de los monogonontes o individuos anhidrobióticos en bdelloideos. Estos propágulos al ser pequeños y resistentes a la sequía hacen que las rotíferas se adapten perfectamente a la dispersión pasiva, aérea o forética.

La reproducción más común en estos organismos es por lo que deriva en una descendencia clonal hembra, aunque bajo ciertas condiciones se pueden obtener machos y se puede dar la reproducción sexual diploide la población de rotíferas tanto en el medio natural como en sus cultivos son hembras, son consumidoras primarias las cuales a su vez son el alimento de muchos estados larvarios de peces e invertebrados.

Laguna de Alvarado: Es un cuerpo de agua somero y alargado que se encuentra en el suroeste del Golfo de México La Laguna de Alvarado es un estuario salobre el cual está ubicado en el municipio de Alvarado, Veracruz, México.

Metales pesados: Estos son elementos naturales que tienen un alto peso atómico, así como una densidad de al menos cinco veces mayor que el del agua.

Mortalidad: Se le conoce como el número de defunciones (muertes) que ocurren en una población específica en un período de tiempo específico.

Partenogénesis: Es un tipo de reproducción asexual de la cual deriva en una descendencia clonal hembra.

Propágulos: Consisten en quistes encapsulados únicos, de cáscara dura y duraderos en el grupo de los monogonontes o individuos anhidrobióticos en bdelloideos. Estos propágulos

al ser pequeños y resistentes a la sequía hacen que las rotíferas se adapten perfectamente a la dispersión pasiva, aérea o forética.

Propágulos: Consisten en quistes encapsulados únicos, de cáscara dura y duraderos en el grupo de los monogonontes o individuos anhidrobióticos en bdelloideos. Estos propágulos al ser pequeños y resistentes a la sequía hacen que las rotíferas se adapten perfectamente a la dispersión pasiva, aérea o forética.

Salinidad: Es la cantidad de sales minerales que se encuentran disueltas en un cuerpo de agua, ésta se suele expresar en gramos por litro. El agua marina tiene una salinidad de 35 gr/L (aunque ésta varía según el mar, la zona y la profundidad)

Tasa de crecimiento: Es el porcentaje de incremento o disminución de una población en un periodo de tiempo determinado

Zooplancton: Zooplancton o también conocido como el plancton animal. Es la fracción del plancton constituida por animales. Está constituido por protozoos, crustáceos como copépodos y cladóceros, y otros como rotíferos, larvas de animales más grandes y de otros artrópodos marinos, y fases juveniles de peces

## 12.Referencias

- Alvarado-Flores, J., & Rico-Martínez, R. (2017). Bioconcentration of lead and X-ray microanalysis with SEM in the freshwater rotifer *Lecane quadridentata* (Rotifera: Monogononta). *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(6), 2869–2872. <https://doi.org/10.15244/pjoes/67331>
- Alvarado-Flores, J., Rico-Martínez, R., Ventura-Juárez, J., Silva-Briano, M., & Rubio-Franchini, I. (2012). Bioconcentration and localization of lead in the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas 1677 (Rotifera: Monogononta). *Aquatic Toxicology*, 109, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.12.007>
- Arreguin Rebolledo, U., Nandini, S., Sánchez, O. E., & Sarma, S. (2018). Combined effects of temperature and salinity on the demographic response of *Proales similis* (Beauchamp, 1907) and *Brachionus plicatilis* (Müller, 1786) (Rotifera) to mercury. *Chemosphere*, 202, 312–321. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.111>
- Arreguin Rebolledo, U., Nandini, S., Sarma, S. S. S., & Escobar-Sánchez, O. (2020). Effect of salinity and temperature on the acute and chronic toxicity of arsenic to the marine rotifers *Proales similis* and *Brachionus ibericus*. *Marine Pollution Bulletin*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111341>
- Arreguin Rebolledo, U., Páez-Osuna, F., & Fernández, R. (2021). Single and mixture toxicity of As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, and Zn to the rotifer *Proales similis* under different salinities. *Environmental Pollution*, 271. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116357>
- Baudouin, M. F., & Scoppa, P. (1974). *Acute Toxicity of Various Metals to Freshwater Zooplankton* 1.
- Benítez-Fernández, N. C., Valadez-Rocha, V., Pérez-Legaspi, I. A., Morales-Castro, E., & Cristina Fuentes-Meza, C. (2020). Variación estacional en la distribución y diversidad de rotíferos del Sistema Lagunar de Alvarado, Veracruz, México. *Hidrobiológica*, 3, 209–219.

- Calle T., J. S., Pachajoa, H., Charry D., J., & Pachecho, R. (2015). Artículo de Revisión: Invited Systematic Review Teratogenic Effect of Cadmium: From The Developing Embryo To The Fetus. In *Revista Colombiana de Salud Ocupacional* (Vol. 5, Issue 2).
- Castro Barrera, T., De Lara Andrade, R., Castro Mejía, G., Castro Mejía, J., & Malpica Sánchez, A. (2003). *Alimento vivo en la acuicultura*.
- CIROS-PÉREZ, J., GÓMEZ, A., & SERRA, M. (2001). *On the taxonomy of three sympatric sibling species of the Brachionus plicatilis (Rotifera) complex from Spain, with the description of B. ibericus n. sp.*
- De La Luz Vázquez-Sauceda, M., Aguirre-Guzmán, G., Sánchez-Martínez, J. G., & Pérez-Castañeda, R. (2011). Cadmium, lead and zinc concentrations in water, sediment and oyster (*Crassostrea virginica*) of San Andres Lagoon, Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(4), 410–414. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0223-1>
- Espinosa-Rodríguez, C. A., Jiménez-Santos, M. A., Martínez-Miranda, D. M., Piedra-Ibarra, E., Rivera-De la Parra, L., & Lugo-Vázquez, A. (2023). *Daphnia magna* (Crustacea: Anomopoda) in central Mexico wetlands: implications of escape from ecotoxicological laboratories. *Biological Invasions*, 26(1), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10530-023-03164-7>
- Guzmán Amaya, P., Villanueva, F., S., & Botello, V. A. (2005). Metales en Tres Lagunas Costeras del Estado de Veracruz. *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*, 361–372.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravi Kumar, R., Ganwsan, V., & Anbazhagan, C. (2011). Microalgae a sustainable feed source for aquaculture. *World J Microbiol Biotechnol*, 27(DOI 10.1007/s11274-010-0632-z), 1737–1746.
- Hernández-Flores, S., Santos-Medrano, G. E., Rubio-Franchini, I., & Rico-Martínez, R. (2020). Evaluation of bioconcentration and toxicity of five metals in the freshwater rotifer *Euchlanis dilatata* Ehrenberg, 1832. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(12), 14058–14069. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07958-3>

Hidalgo, N., Fernández, P., Bustos, D., Rosa, M., & Senese, A. (2022). CEPAS NATIVAS TOLERANTES A METALES PESADOS AISLADOS DEL PASIVO MINERO DE LA MINA HUALILÁN, ARGENTINA. *Revista Colombiana de Materiales*, 18. <https://doi.org/10.17533/udea.rcm.n18a02>

Hovanec, T. A. (2024). *Synthetic Sea Salts: Are They All Equal? A Primer on Instant Ocean® The Premier Sea Salt for Your Marine Aquarium*.

Jeong, H., Byeon, E., Kim, D. H., Maszczyk, P., & Lee, J. S. (2023). Heavy metals and metalloid in aquatic invertebrates: A review of single/mixed forms, combination with other pollutants, and environmental factors. In *Marine Pollution Bulletin* (Vol. 191). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114959>

Kostopoulou, V., Carmona, M. J., & Divanach, P. (2012). *Brachionus plicatilis* as emerging biotool for applications. *Journal of Biological Research Thessalonki*, 17, 97–112.

Mills, S., Alcántara-Rodríguez, J. A., Ciroso-Pérez, J., Gómez, A., Hagiwara, A., Galindo, K. H., Jersabek, C. D., Malekzadeh-Viayeh, R., Leasi, F., Lee, J. S., Mark Welch, D. B., Papakostas, S., Riss, S., Segers, H., Serra, M., Shiel, R., Smolak, R., Snell, T. W., Stelzer, C. P., ... Walsh, E. J. (2016). Fifteen species in one: deciphering the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera, Monogononta) through DNA taxonomy. *Hydrobiologia*, 796(1), 39–58. <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2725-7>

Moha-León, J. D., Pérez-Legaspi, I. A., Hernández-Vergara, M. P., Pérez-Rostro, C. I., & Clark-Tapia, R. (2015). Study of the effects of photoperiod and salinity in the Alvarado strain of the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera: Monogononta). *Annales de Limnologie*, 51(4), 335–342. <https://doi.org/10.1051/limn/2015032>

Navarro Moreno, L. G., Vázquez Velasco, L., Rangel Cordero, A., & González, J. M. (2022). Contaminación y hongos: resistencia a metales pesados. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 3(2), 215–232. <https://doi.org/10.56712/latam.v3i2.76>

NORMA Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. DOF: 18/01/1996

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-129-SSA1-1995, Bienes y servicios. Productos de la pesca. Disposiciones y especificaciones sanitarias. DOF: 29/01/1996

NORMA Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación. DOF: 11/03/2022.

Pérez-Legaspi, I. A., Quintanar, J. L., & Rico-Martínez, R. (2010). Comparing toxicity endpoints on *Lecane quadridentata* (Rotifera: Monogononta) exposed to two anticholinesterases pesticides. *Environmental Toxicology*, 27(9), 518–525. <https://doi.org/10.1002/tox.20668>

Pérez-Legaspi, I. A., & Rico-Martínez, R. (2001). Acute toxicity tests on three species of the genus *Lecane* (Rotifera: Monogononta). In *Hydrobiologia* (Vol. 446).

Preston, B. L., & Snell, T. W. (2000). *Full life-cycle toxicity assessment using rotifer resting egg production: implications for ecological risk assessment*. [www.elsevier.com/locate/envpol](http://www.elsevier.com/locate/envpol)

Pukanha, K., Yimthiang, S., & Kwanhian, W. (2020). The immunotoxicity of chronic exposure to high levels of lead: An ex vivo investigation. *Toxics*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/TOXICS8030056>

Rico-Martínez, R., Snell, T. W., & Shearer, T. L. (2013). Synergistic toxicity of Macondo crude oil and dispersant Corexit 9500A<sup>®</sup> to the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera). *Environmental Pollution*, 173, 5–10. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.09.024>

Rosales Barrantes, R., & Tesis para obtener licenciatura. (2012). *Efecto de la temperatura, la salinidad y sus interacciones sobre el crecimiento poblacional del rotífero nativo Brachionus sp.* <http://hdl.handle.net/1834/8579>

Segers, H. (1995). Nomenclatural consequences of some recent studies on *Brachionus plicatilis* (Rotifera, Brachionidae). *Hydrobiologia*, 313–314(1), 121–122. <https://doi.org/10.1007/BF00025939>

Segers, H. (2008). Global diversity of rotifers (Rotifera) in freshwater. In *Hydrobiologia* (Vol. 595, Issue 1, pp. 49–59). <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9003-7>

Snell, T. W., & Janssen, C. R. (1995). Rotifers in ecotoxicology : a review. In *Hydrobiologia* (Vol. 313).

Snell, T. W., Johnston, R. K., Matthews, A. B., Park, N., Berry, S., & Brashear, J. (2013). Using *Proales similis* (Rotifera) for toxicity assessment in marine waters. *Environmental Pollution*, 173, 5–10.

Snell, T. W., & Moffat, B. D. (1991). A 2-d life cycle test with the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11, 1249–1257.

Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In *EXS* (Vol. 101, pp. 133–164). [https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)

Wetz, M. S., & Yoskowitz, D. W. (2013). An “extreme” future for estuaries? Effects of extreme climatic events on estuarine water quality and ecology. In *Marine Pollution Bulletin* (Vol. 69, Issues 1–2, pp. 7–18). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.01.020>

