

CAPÍTULO

9



Respuesta fisiológica del 'guppy' (*Poecilia reticulata*)

ante diferentes
concentraciones
de cadmio y plomo

POR

Johanna Gabriela **PONCE CARRERA**

Paolo Alexandra **CHÁVEZ GUERRERO**

Moraima Cristina **MERA AGUAS**

Introducción

El sistema lacustre de Yahuarcocha alberga una rica diversidad de flora y fauna. Tiene una gran importancia ecológica, ya que representa un refugio para las aves que habitan en la totoras, así como para las especies migratorias. Adicionalmente, el ecosistema posee valores paisajísticos y constituye un valioso recurso en la actividad económica; sin embargo, en un estudio sobre la calidad de agua de la laguna por Mera y Shim (2016) y en otro sobre la evaluación de metales pesados en la especie tilapia (*Oreochromis niloticus*) efectuado por Malitaxi (2016), se establece la presencia de concentraciones alarmantes de cadmio y plomo, los cuales, por su alta toxicidad, permanencia, capacidad de bioacumular y biomagnificar en sus cadenas alimenticias, resultan un peligro para todos los organismos que conforman el ecosistema acuático (Cisternas *et al.*, 1997).

En vista de que la laguna representa un medio importante para el desarrollo de algunas especies de peces, y de que no hay sobre ella estudios de metales pesados en los organismos ícticos, se hizo el presente estudio utilizando la especie *Poecilia reticulata* como bioindicador para cuantificar la disponibilidad de cadmio y plomo, además de contribuir a un mayor conocimiento sobre el grado de toxicidad y riesgo ecológico con el fin de que las instituciones encargadas cuenten con más información y puedan adoptar medidas pertinentes para el cuidado de la calidad del agua y la vida acuática de la laguna.

La especie *Poecilia reticulata* puede ser tomada en cuenta como bioindicador de la presencia de elementos tóxicos, pues la tolerancia sugiere su uso en pruebas ecotoxicológicas como en el estudio realizado por Aguirre (2014), en el cual evaluó el impacto ecotoxicológico del cadmio de origen antropogénico en las aguas de ríos y estuarios, el porcentaje de mortalidad o límite de tolerancia media (LTm) utilizando diferentes concentraciones de cadmio, además de la sensibilidad producida por su efecto tóxico en la *Poecilia reticulata* o 'guppy', pez muy apreciado para las peceras decorativas.

En el estudio de Aguirre (2014) se establecen dos fases: en la primera, con una concentración de 0,70 mg.L⁻¹, a las 36 horas de exposición se determinó la mortalidad del 50% de los peces; a partir de esta concentración se preparó la segunda Fase, cuyos datos obtenidos en esta dieron como respuesta concentraciones sobre los 0,719 mg.L⁻¹ como límite de tolerancia medio (LTm). En cuanto al comportamiento, los peces presentaron nado confuso y lesiones en la piel.

Materiales y métodos

Esta investigación de tipo descriptivo-experimental se desarrolló en los laboratorios de Biología, Química Analítica Instrumental y Bromatología de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, sede-Ibarra (PUCE-SI).

Para la determinación de plomo y cadmio en las diferentes muestras, tanto de agua como de la especie en estudio, se utilizó un equipo de absorción atómica con módulo de horno de grafito.

Los bioensayos de ecotoxicidad se evaluaron con tres dosis de metales pesados más un testigo, efectuándose tres repeticiones y dando un total de doce unidades experimentales. El número de ejemplares por pecera fue de doce, con un total de 144 en cada bioensayo. Las dosis para cadmio fueron de 1.58, 3.15 y 6.30 ppm, y para plomo de 3.20, 6.40 y 12.80 ppm.

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) y la eficacia de los tratamientos se evaluó a través de un análisis de varianza (ADEVA) y una prueba de significancia Tukey al 5%.

Métodos

La toma de muestras se hizo considerando el perímetro de la laguna de Yahuarcocha (7.86 km), estableciéndose 6 puntos de muestreo con distancias equidistantes entre ellas, tal como se muestra en la FIGURA 1, y tomando como referencia las riveras que presentan mayor contaminación (Malitaxi, 2016).

TABLA 1. Coordenadas de los puntos de muestro

| Pts | NOMBRE | COORDENADAS | | ALTITUD (msnm) |
|-----|------------------------------------|--------------|---------------|----------------|
| 1 | Entrada a la laguna de Yahuarcocha | 022°37.10" N | 7806°39.00" O | 2202 |
| 2 | Muelle | 022°40.34" N | 7806°04.81" O | 2205 |
| 3 | Autódromo de Yahuarcocha | 022°43.67" N | 7805°35.03" O | 2196 |
| 4 | Zona de cultivos | 022°16.73" N | 7805°33.88" O | 2192 |
| 5 | Pueblo grande (sector Priorato) | 021°52.95" N | 7805°59.05" O | 2194 |
| 6 | Pueblo pequeño | 021°38.22" N | 7806°16.84" O | 2201 |

Fuente: Elaboración propia



FIGURA 1
Puntos de muestreo.
Fuente: Google Earth.
Modificado por:
Elaboración propia

Índices ecotoxicológicos

Los bioensayos de ecotoxicidad se hicieron en dos fases, la primera tuvo una duración de 8 semanas (incluida 1 semana de adaptación de la especie) para determinar el límite máximo de tolerancia de *P. reticulata* en función de las concentraciones dosificadas de cadmio y plomo, y la segunda para establecer la mortalidad de los ejemplares a las 96 horas de exposición a esos metales. La alimentación se suspendió durante la segunda prueba con el fin de evitar interferencia por procesos digestivos. Los parámetros de control fueron temperatura (°C), pH, conductividad eléctrica (CE), oxígeno disuelto (OD), turbidez, color y dureza total.

Resultados y discusión

Caracterización del agua de la Laguna de Yahuarcocha. Parámetros físicos, químicos, biológicos

Los resultados se obtuvieron de una muestra compuesta de los puntos establecidos para el estudio.

En la **TABLA 2** se indican los límites permisibles de los parámetros analizados comparados con la normativa ecuatoriana (TULSMA) y la peruana con criterios de calidad admisibles para la preservación de la vida acuática en el caso del agua de la laguna.

TABLA 2. Análisis físico, químico y biológico de los puntos de muestreo

| Parámetro | | Límite máximo permisible | Preservación de flora y fauna | Cumplimiento de la normativa |
|---|------|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| pH | 9,14 | 6,5 - 9 | Ecuatoriana | NO |
| Temperatura (°C) | 23,2 | Condiciones naturales +3 | Ecuatoriana | SI |
| Conductividad E. ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) | 440 | - | - | - |
| Oxígeno disuelto ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 5,26 | >5 | Ecuatoriana | SI |
| Dureza total ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 5,5 | - | - | - |
| Turbidez (NTU) | 17,1 | - | - | - |
| Color aparente (UC) | 265 | - | - | - |
| Color aeal (UC) | 102 | - | - | - |
| DBO ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 142 | <5 | Peruana | NO |
| DQO ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 57 | - | - | - |
| Amonio ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 0,85 | - | - | - |
| Fosfatos ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 1,3 | 0,40 | Peruana | NO |
| Hierro ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 0,59 | 0,30 | Ecuatoriana | NO |
| Sulfatos ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 34 | 0,40 | Chilena | NO |
| Nitritos ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 0,14 | 0,02 | Peruana | NO |
| Nitratos ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) | 8 | 5 | Peruana | NO |

Fuente: Elaboración propia

Para el agua de la laguna, los parámetros pH, DBO, fosfatos, hierro, sulfatos, nitritos y nitratos están fuera de los rangos permisibles, es decir, según los criterios de calidad de agua no son aptas para la preservación de flora y fauna, indicando las consecuencias de las actividades antropogénicas debido al alto grado de contaminación por posibles contaminantes como gases de combustión en la laguna (lanchas, motos acuáticas), en la carretera (vehículos, buses), actividad agrícola (agroquímicos: pesticidas, fungicidas, entre otros), actividad ganadera (residuos sólidos y líquidos, pastoreo de ganado), presión de desarrollo urbano (vivienda e infraestructura), actividad turística y comercial (residuos sólidos y líquidos) y afecciones causadas por agentes naturales (descomposición de materia orgánica, florecimiento excesivo de plantas acuáticas, elevado aporte de nutrientes y sedimentos), además de las aguas residuales, domésticas y de escorrentía que provocan procesos de eutrofización aparentemente muy rápidos que podrían dar lugar a un ambiente anóxico.

Determinación de cadmio

Las concentraciones elevadas de cadmio en los diferentes puntos puede ser consecuencia de las aguas residuales provenientes del pueblo El Priorato y de fuentes de agua como el canal del río Tahuando y las quebradas Manzano Huaico y Polo Golo, procedentes en su mayoría de lavanderías, restos de alimentos y tintes, además de los desechos de plástico a causa de la mala práctica turística, que es la fuente de mayor contaminación por cadmio. En todos los puntos de muestreo, estas concentraciones son muy superiores a los límites máximos permisibles para la preservación de flora y fauna previstos en el TULSMA.

Los altos niveles de cadmio representan un factor negativo que pone en riesgo el medio acuático (flora y fauna), pues este metal es altamente tóxico y bioacumulativo.

TABLA 3. Concentración de cadmio en agua

| AGUA CADMIO (Cd) | | | |
|------------------|---------------------|--|------------------------------|
| Puntos | Concentración (ppm) | Límite máximo permisible (ppm) para la preservación de flora y fauna | Cumplimiento de la normativa |
| 1 | 0,0154 | 0,001* | NO |
| 2 | 0,0079 | | NO |
| 3 | 0,0106 | | NO |
| 4 | 0,0063 | | NO |
| 5 | 0,0060 | | NO |
| 6 | 0,0057 | | NO |

Fuente: Elaboración propia. *TULSMA 2016, Libro VI, Anexo I, Norma ecuatoriana

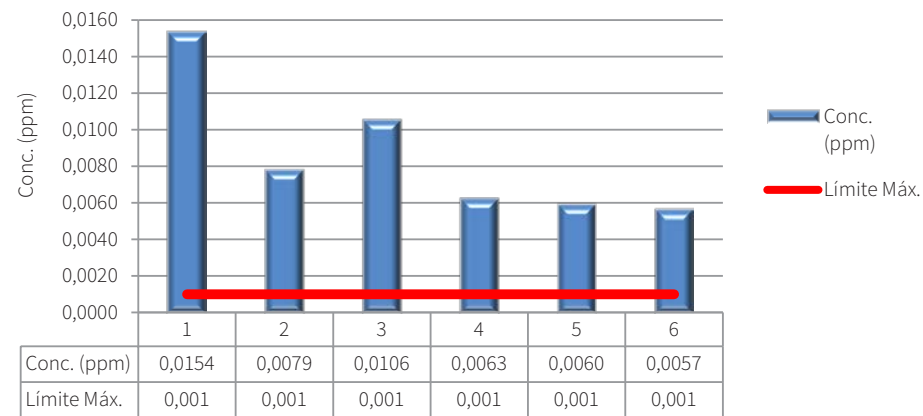


FIGURA 2
Concentración de cadmio (agua) en los puntos de muestreo.
Fuente: Elaboración propia

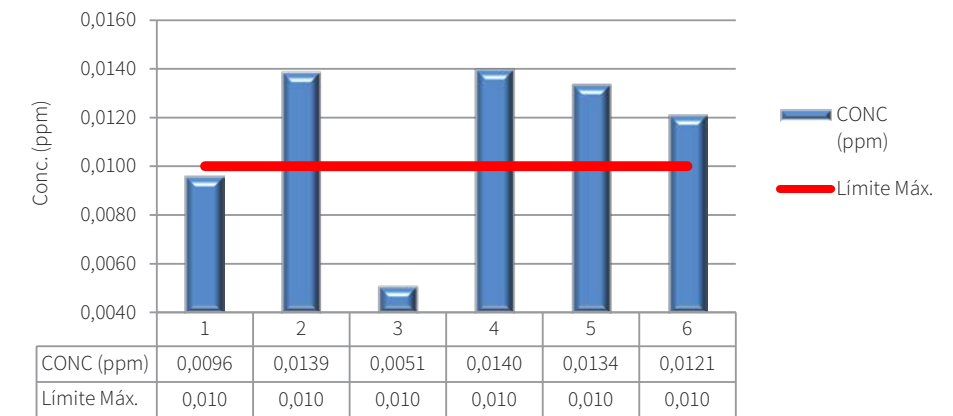


FIGURA 3
Concentración de plomo (agua) en los puntos de muestreo.
Fuente: Elaboración propia

Determinación de plomo

Las concentraciones elevadas de plomo pueden ser consecuencia de las aguas residuales provenientes del pueblo El Priorato y de fuentes de agua como el canal del río Tahuando y las quebradas Manzano Haico y Polo como producto de las actividades antropogénicas por actividades agrícolas (fertilizantes: insecticida, Arseniato de Pb) y ganaderas (pesticidas, pinturas), que son vertidas a los afluentes, y por las emisiones gaseosas de las lanchas.

TABLA 4. Concentración de plomo en agua

| AGUA PLOMO (Pb) | | | |
|-----------------|---------------------|--|------------------------------|
| Puntos | Concentración (ppm) | Límite máximo permisible (PPM) para la preservación de flora y fauna | Cumplimiento de la normativa |
| 1 | 0,0096 | 0,010* | SI |
| 2 | 0,0139 | | NO |
| 3 | 0,0051 | | SI |
| 4 | 0,0141 | | NO |
| 5 | 0,0134 | | NO |
| 6 | 0,0121 | | NO |

Fuente: Elaboración propia. *TULSMA 2016, Libro VI, Anexo I, Norma ecuatoriana

Las concentraciones excesivas de plomo representan un riesgo al ecosistema acuático (flora y fauna del entorno) debido a que este elemento es uno de los más tóxicos y causa repercusiones fisiológicas en los seres humanos y en los animales, pues pueden afectar casi todos sus órganos y sistemas.

Determinación de metales pesados en los peces (*P. reticulata*)

Cadmio

En la **TABLA 5** se presenta la concentración de cadmio en *P. reticulata* determinada para cada punto de muestreo, en la cual se puede apreciar que en el punto 4 (zona de cultivos) existe una mayor concentración debido al uso de fertilizantes en la zona agrícola, cuyas aguas bajan a través de la escorrentía directamente a la laguna, en donde se van concentrando en los sedimentos que se encuentran junto con las algas que les sirven como alimento y mediante su ingesta lo bioacumulan en su interior.

TABLA 5. Concentración de cadmio (*P. reticulata*)

| PEZ CADMIO (Cd) | | | |
|-----------------|---------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Puntos | Concentración (ppm) | Límite máximo permisible (mg/Kg) | Cumplimiento de la normativa |
| 1 | 0,0091 | 0,05* | SI |
| 2 | 0,0130 | | SI |
| 3 | 0,0128 | | SI |
| 4 | 0,0142 | | SI |
| 5 | 0,0136 | | SI |
| 6 | 0,0072 | | SI |

Fuente: Elaboración propia. *Reglamento N466/2001/CE. (Comisión de las Comunidades Europeas).

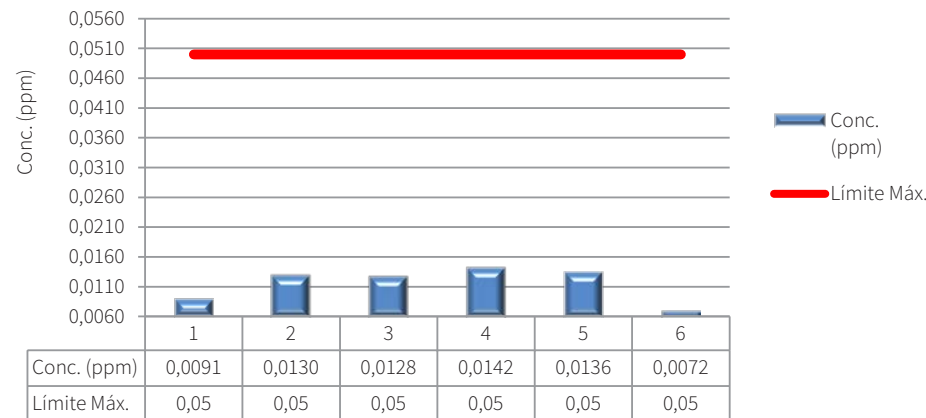


FIGURA 4

Concentración de cadmio (pez) en los puntos de muestreo.
Fuente: Elaboración propia

Plomo

En la **TABLA 6** se presenta la concentración de plomo en *P. reticulata* determinada para cada punto de muestreo. Se puede apreciar que en el punto 3 (pista de carreras) existe una mayor concentración, lo cual está relacionado con las emisiones gaseosas provenientes tanto del tránsito vehicular como de los eventos deportivos en el autódromo de Yahuarocha (piques, motociclismo, cabezales), que generan partículas de Pb que bajan a través de la escorrentía o el viento directamente a la laguna, las cuales se han ido acumulando con el paso de los años y son fácilmente absorbibles por los peces.

TABLA 6. Concentración de plomo (*P. reticulata*)

| PEZ PLOMO (Pb) | | | |
|----------------|---------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Puntos | Concentración (ppm) | Límite máximo permisible (mg/Kg) | Cumplimiento de la normativa |
| 1 | 0,0102 | 0,2* | SI |
| 2 | 0,0227 | | SI |
| 3 | 0,0244 | | SI |
| 4 | 0,0204 | | SI |
| 5 | 0,0213 | | SI |
| 6 | 0,0067 | | SI |

Fuente: Elaboración propia. *Reglamento N466/2001/CE. (Comisión de las Comunidades Europeas)

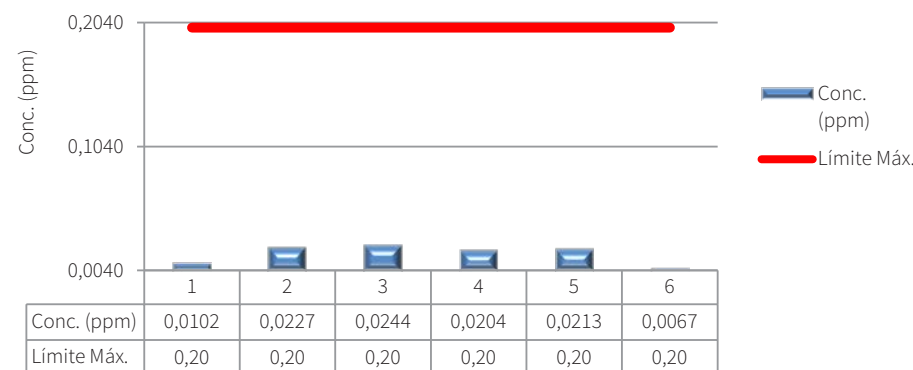


FIGURA 5

Concentración de plomo (pez) en los puntos de muestreo.
Fuente: Elaboración propia

Análisis ecotoxicológicos

Primera fase

Los resultados obtenidos indican que la exposición a las dosis subletales de cadmio y plomo por períodos prolongados de tiempo generan resistencia en las especies, es así que una concentración de cadmio o plomo que produce efectos letales tempranos tiende a elevarse cuando se expone previamente a concentraciones subletales (mostrando ser más resistentes) García, (2002) cita a (Stubblefield et al.,1999) a causa de una aclimatación fisiológica o a una resistencia genética debida a los sistemas detoxificadores como las metalotioneínas que se encargan en la protección de la célula frente al estrés oxidativo (Chubatsu y Meneghini, 1993), el control homeostático de la absorción y el metabolismo frente a estos metales (Cousins, 1985).

Esta adaptación puede tener consecuencias, ya que una población adaptada puede permanecer en áreas contaminadas provocando alteraciones especialmente de tipo genético (anormalidades en el desarrollo y crecimiento).

Evaluación cadmio

En la **TABLA 7** se muestran las dosis suministradas hasta alcanzar la dosis letal ($DL_{50\%}$) y ($DL_{100\%}$), con su respectiva tasa de mortalidad

TABLA 7. Determinación del dosis letal ($DL_{50\%}$ y $DL_{100\%}$) para cadmio

| Dosis | Semana | Concentración (ppm) | Mortalidad (%) |
|--------------|---------|---------------------|----------------|
| $DL_{50\%}$ | Cuarta | 1.50 | 52,73 |
| $DL_{100\%}$ | Séptima | 6.30 | 100 |

Fuente: Elaboración propia

Evaluación plomo

En la **TABLA 8** se muestran las dosis suministradas hasta alcanzar las dosis letales con su tasa de mortalidad

TABLA 8. Determinación del DL 50% y 100% para plomo

| Dosis | Semana | Concentración (ppm) | Mortalidad (%) |
|--------------|--------|---------------------|----------------|
| $DL_{50\%}$ | Quinta | 3.10 | 54,55 |
| $DL_{100\%}$ | Octava | 25.50 | 100 |

Fuente: Elaboración propia

Los especímenes expuestos a dosis de plomo resultaron ser más resistentes en relación con las dosis suministradas de cadmio debido a que los ejemplares presentaron una mejor metabolización, como en el estudio de García (2002), que cita a (Norstrom et al., 1976) e indica que la ingestión de tóxicos depende de la concentración del tóxico en la comida el agua, así como de la eficiencia en la asimilación a través de las branquias, es decir, el metabolismo, y, por tanto, la ventilación branquial es lo que facilita la ingestión.

Segunda fase

Una vez finalizada la primera fase de las dosis letales en cadmio y plomo se hicieron los ensayos para determinar los índices ecotoxicológicos.

Evaluación del cadmio. Sensibilidad

El análisis de este parámetro se llevó a cabo con la finalidad de evaluar la capacidad de respuesta de la especie en estudio *P. Reticulata* ante un estímulo, en este caso las dosis de metales pesados.

En la **TABLA 9** se presenta la sensibilidad provocada en *P. Reticulata* en respuesta al efecto tóxico del cadmio. Los resultados obtenidos a continuación revelan que cuando los peces se exponen a niveles tóxicos agudos sin ser previamente adaptados a concentraciones menores se produce una muerte brusca en los ejemplares.

TABLA 9. Sensibilidad en ejemplares de *P. reticulata* durante el ensayo de mortandad con dosis de cadmio

| Tratamientos | SENSIBILIDAD | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|--------------|-----|------|---------------------|-----|------|-----------------------|-----|------|-------------------------|-----|------|----------------------|-----|------|
| | Agresividad | | | Falta de movimiento | | | Pérdida de equilibrio | | | Pigmentación del cuerpo | | | Pigmentación del ojo | | |
| | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII |
| T1: 1,58ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| T2: 3,25ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| T3: 6,30ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| T4: Testigo | | | | | | | | | | | | | | | |

Fuente: Elaboración propia

■ No hay cambio - 0% ■ Cambio moderado - 50% ■ Cambio alto - 100%

El cambio más evidente fue la agresividad, la cual se presentó en un 100 % en los tratamientos 2 y 3 y en 50 % en los s tratamientos 1 y 4. Cabe recalcar que la agresividad se puede presentar por la falta de alimento, por el estrés ante el metal (Cd) al cual estaban sometidos los especímenes o por el territorialismo que defiende el área para atraer a las hembras (Ismael, s.f).

La falta de movimiento presentó un cambio moderado para los tratamientos 2 y 3, lo que puede ser debido a la inflamación abdominal (**FIGURA 6**) que presentaron algunos especímenes por ingestión del metal y hubo una ausencia en los tratamientos 1 y 4.

La pérdida de equilibrio fue el comportamiento más frecuente debido a la falta de oxígeno en el agua o la debilidad del pez frente al contaminante, hallazgo evidente en el 100% en el T3 (dosis alta) y en los demás tratamientos un cambio moderado a excepción del T4 (testigo), con el cual los peces mostraron un nado normal.

En cuanto a la pigmentación del cuerpo presentaron opacidad de la piel mientras que en los ojos hubo inflamación y sangrado (ligero derrame), (**FIGURA 6**) por la muerte agresiva que tuvieron los ejemplares, especialmente los del T3.



FIGURA 6
Cambios presentados en *Poecilia reticulata* por presencia de cadmio.
Fuente: Elaboración propia

Mortalidad

En la **FIGURA 7** se puede observar que el tratamiento 1 alcanza el DL_{50%} a las 96 horas de exposición y el tratamiento 2 a las 72 horas, sin que la dosis afecte considerablemente a todos los peces; sin embargo, en el tratamiento 3, la mortalidad se hizo evidente con un índice del 94,16% de la población alcanzando el DL_{100%} en la repetición 1 y 3, mientras que el tratamiento 4 indica ausencia de mortalidad.

En la mortalidad de los peces pueden influir ciertos factores como el metabolismo, el tamaño y la edad. El cadmio se acumula principalmente en el riñón e hígado de los organismos y altera los mecanismos de regulación de los iones (al aumentar el cadmio en el medio acuático afecta la captación branquial de Ca, ya que compiten por los mismos sitios de unión a nivel branquial) provocando hipocalcemia, que reduce las concentraciones de calcio en el plasma y es la responsable directa de la mortalidad en los peces (Botello, Redón, Gold y Agraz, 2005). Estos autores señalan que el cadmio produce un incremento en el consumo de oxígeno y, por ende, aumenta el sistema de ventilación branquial, que altera los mecanismos que controlan la transferencia de oxígeno provocando bradicardia en los peces.

Albert (2001) indica que las primeras fases de desarrollo y crecimiento de los peces suelen ser más susceptibles a la acumulación de metales, ya que son sexualmente inmaduros y con procesos metabólicos ineficientes de detoxificación, mientras que los peces de mayor edad pueden regular mejor tanto la ingesta como la excreción de metales; sin embargo, en peces adultos, la toxicidad es acumulativa y su muerte es a causa de una hipoxia por la precipitación de mucina en las branquias.

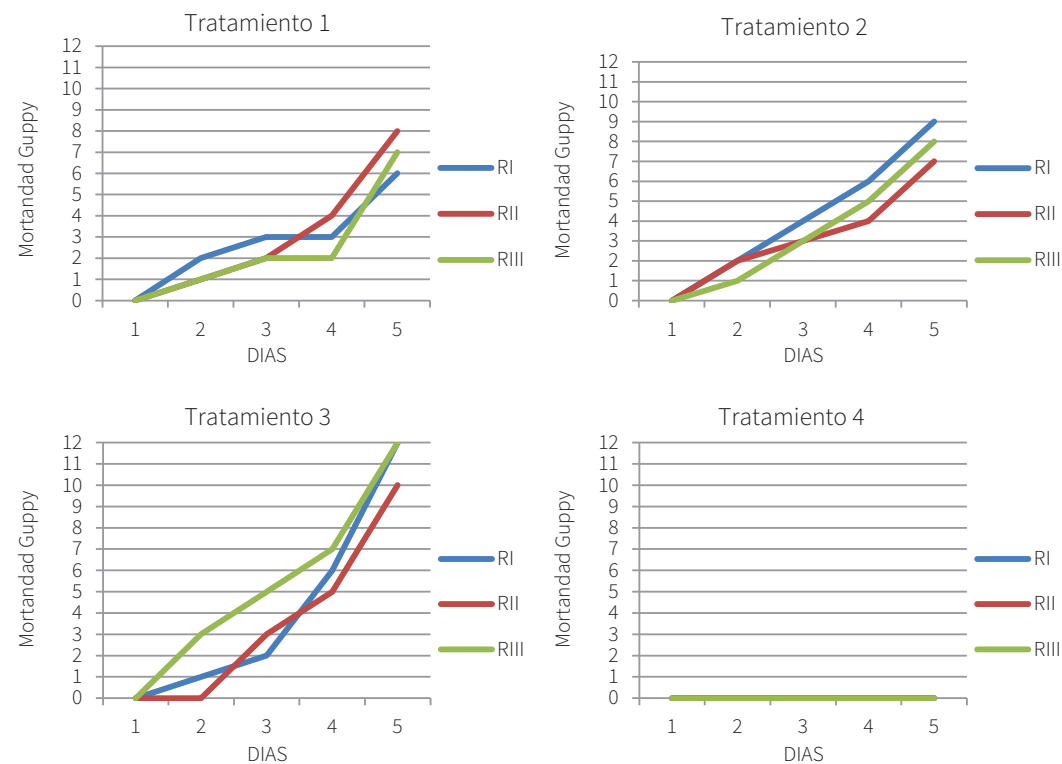


FIGURA 7
Mortandad por tratamiento con cadmio. Fuente: Elaboración propia

Existe un “mecanismo de detoxificación en los peces, y lo constituyen los corpúsculos intestinales, formados por células mucosas, mucus y gránulos. Estos corpúsculos presentan afinidad por el cadmio y se eliminan vía heces (UNEP, 1968; Botello, Redón, Gold y Agraz, 2005).

Índice de mortalidad

En la **FIGURA 8** se muestra la población de los diferentes tratamientos. De los 144 ejemplares capturados, 85 fueron machos y 59 fueron hembras, presentando una tasa de mortalidad de 63% y 37% respectivamente.

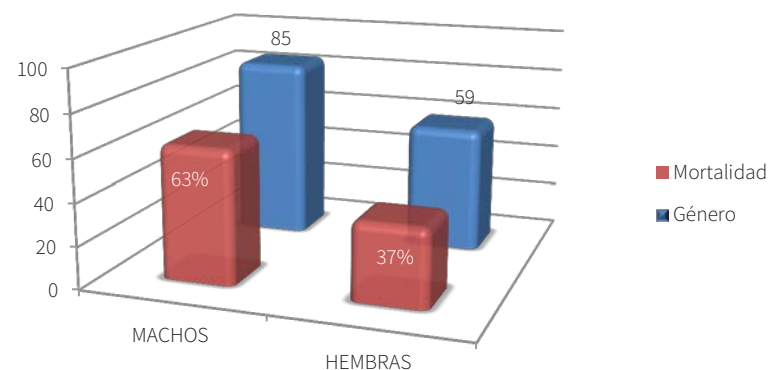


FIGURA 8
Índice de mortalidad. Fuente: Elaboración propia

Análisis estadístico

Una vez desarrollado el ensayo en el que se evaluó la mortandad de los ejemplares en los tratamientos con las dosis letales establecidas T1 dosis baja (1,58 ppm), T2 dosis media (3,15 ppm), T3 dosis alta (6,30 ppm) y T4 testigo (agua laguna), determinamos que existen diferencias significativas entre los tratamientos, con un CV de 13,87%.

TABLA 10. Análisis ADEVA variable Cadmio

| FV | GL | SC | CM | Fo | F _{0,05} |
|--------------------|--------|--------|-------|-------|-------------------|
| Total | 11 | 210,92 | | | |
| Tratamientos | 3 | 204,25 | 68,08 | 81,70 | * |
| Error experimental | 8 | 6,67 | 0,83 | | |
| CV | 13,87% | | | | |

Fuente: Elaboración propia

La **TABLA 11** muestra la prueba Tukey al 5% y obtuvo 3 grupos. El grupo a o tratamiento 3 (dosis alta) generó el mejor resultado que corresponde a una mortalidad del 94,16% de *Poecilia reticulata*, seguido del grupo ab o tratamiento 2 (dosis media), que corresponde a una mortalidad del 66,66% de la población, tal como se muestra en la **FIGURA 9**.

TABLA 11. Análisis TUKEY variable cadmio por rangos

| Tratamientos | Promedio | Rango |
|------------------|----------|-------|
| T3 (dosis alta) | 11,3 | a |
| T2 (dosis media) | 8 | ab |
| T1 (dosis baja) | 7 | bc |
| T4 (testigo) | 0 | c |

Fuente: Elaboración propia

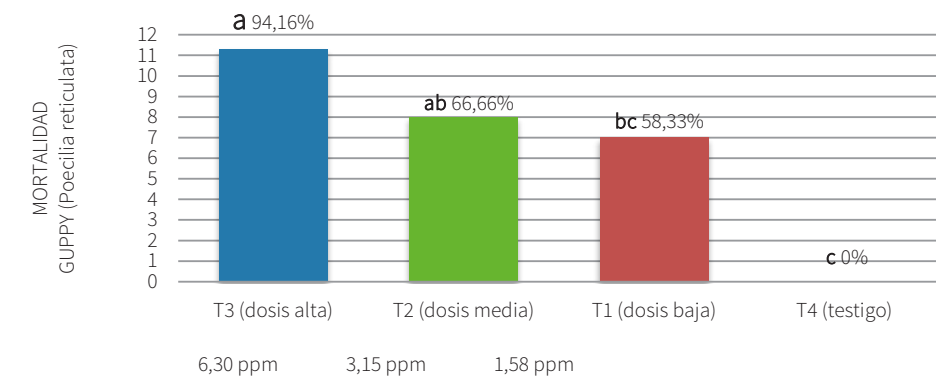


FIGURA 9
Promedios por tratamiento de cadmio. Fuente: Elaboración propia

Estudio de la concentración final de cadmio en los peces

Una vez finalizado el ensayo se obtuvieron las siguientes concentraciones y se comprobó la bioacumulación del cadmio en el interior del pez.

Comparados con el testigo (T4), que tiene 15,03 ppb, el tratamiento con la dosis alta (T3) presenta una concentración cuatro veces mayor (66,66 ppb), la dosis media (T2) es tres veces mayor (43,42 ppb) y la dosis baja casi el doble que la del testigo (24,78 ppb).

La bioacumulación de cadmio fue superior a la del plomo en vista de que su solubilidad en agua es mucho mayor, lo que lo hace mucho más disponible y fácilmente absorbible por los peces. La dureza es otro factor que interviene en la absorción, pues al aumentar los iones de calcio e hidronios en la solución, los iones de cadmio se acumulan más en las branquias debido a su afinidad por canales de calcio (García, 2002).

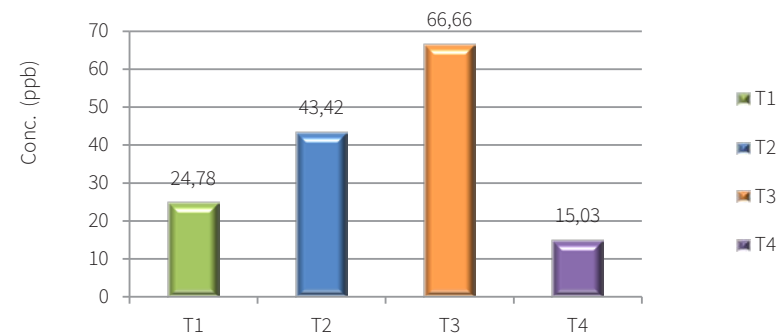


FIGURA 10
Acumulación de Cd en el pez.
Fuente: Elaboración propia

Evaluación del plomo. Sensibilidad

Para evaluar la respuesta de la especie en estudio ante la concentración de plomo se evaluó este parámetro. En la **TABLA 12** se presenta la sensibilidad provocada en *P. reticulata* como respuesta al efecto tóxico del plomo. Los resultados obtenidos a continuación revelan que cuando los peces se exponen a niveles tóxicos agudos sin ser previamente adaptados a concentraciones menores, se produce una muerte brusca en los ejemplares.

TABLA 12. Sensibilidad en ejemplares de *P. reticulata* durante el ensayo de mortandad con dosis de plomo

| Tratamientos | SENSIBILIDAD | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|--------------|-----|------|---------------------|-----|------|-----------------------|-----|------|-------------------------|-----|------|----------------------|-----|------|
| | Agresividad | | | Falta de movimiento | | | Pérdida de equilibrio | | | Pigmentación del cuerpo | | | Pigmentación del ojo | | |
| | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII | RI | RII | RIII |
| T1: 3,20ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| T2: 6,40ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| T3: 12,80ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| T4: Testigo | | | | | | | | | | | | | | | |

Fuente: Elaboración propia

■ No hay cambio - 0% ■ Cambio moderado - 50% ■ Cambio alto - 100%

El cambio más evidente fue la agresividad, hallazgo presente en un 100 % en el T2 y T3, y en un 50 % en T1 y T4. La agresividad se pudo presentar por la falta de alimento, por el estrés ante el metal (Pb) al cual estaban sometidos los especímenes o por el territorialismo, que defiende el área para atraer a las hembras.

La falta de movimiento presentó un cambio alto para el T3 y un cambio moderado para el T2, lo que pudo deberse a la inflamación abdominal (**FIGURA 11**) que presentaron ciertos individuos por ingestión del metal y hubo una ausencia en el T1 y T4.

La pérdida de equilibrio fue el comportamiento más frecuente debido a la falta de oxígeno en el agua o a la debilidad del pez frente al contaminante, hallazgo evidente en el 100 % en el T3RI (dosis alta) y en los demás tratamientos un cambio moderado, a excepción del T4 (testigo) con el cual los peces mostraron un nado normal.

En cuanto a la pigmentación del cuerpo presentaron opacidad de la piel e hinchazón y sangrado (ligero derrame, **FIGURA 11**) por la muerte agresiva que tuvieron los ejemplares, especialmente los del T3.

Los cambios de comportamiento demuestran que a mayor concentración de contaminante, mayor será el deterioro de los especímenes.



FIGURA 11
Cambios presentados en *P. reticulata* por presencia de plomo.
Fuente: Elaboración propia.

Mortalidad

En la **FIGURA 12** se muestra que el T1 alcanza el $DL_{50\%}$ a las 96 horas de exposición, y para el T2 a las 72 horas, sin que la dosis afecte considerablemente a todos los individuos; sin embargo, en el T3R1, la mortalidad se hizo evidente con un índice de mortandad del 91,66% de la población alcanzando el $DL_{100\%}$, mientras que el tratamiento 4 indica la ausencia de mortalidad.

En la mortalidad de los peces pueden influir ciertos factores como el metabolismo, el tamaño y la edad. El plomo se acumula principalmente en el hígado y las branquias. Provoca saturnismo, enfermedad que causa desórdenes en el metabolismo de las porfirinas (clase de pigmentos presentes en la sangre, orina y heces) (Levy y Bosack, 2001). Cordero (2007) menciona que la exposición al plomo impide la captación de oxígeno por las branquias debido a la excesiva producción de moco, que las recubre y aísla, además de que produce efectos en su morfología, infertilidad, daños musculares y formaciones tumorales.

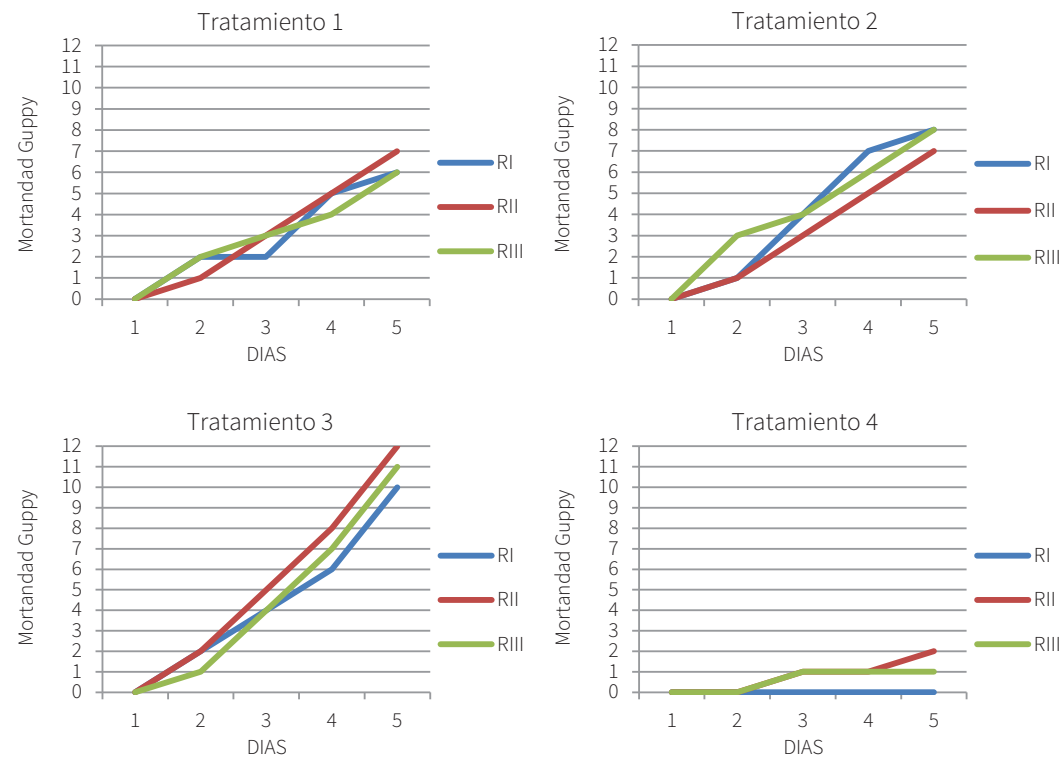


FIGURA 12
Mortandad por tratamiento (Pb).
Fuente: Elaboración propia

Albert (2001) indica que las primeras fases de desarrollo y crecimiento de los peces suelen ser más susceptibles a la acumulación de metales, ya que son sexualmente inmaduros y con procesos metabólicos de detoxificación ineficientes, mientras que los peces con más años pueden regular mejor tanto la ingesta como la excreción de metales; sin embargo, en peces adultos, la toxicidad es acumulativa y su muerte es causada por hipoxia y la precipitación de mucina en las branquias.

Índice de mortalidad

En la **FIGURA 13** se muestra la población de los diferentes tratamientos. De los 144 ejemplares capturados, 87 fueron machos y 57 fueron hembras, presentando una tasa de mortalidad de 58 % y 42 % respectivamente.

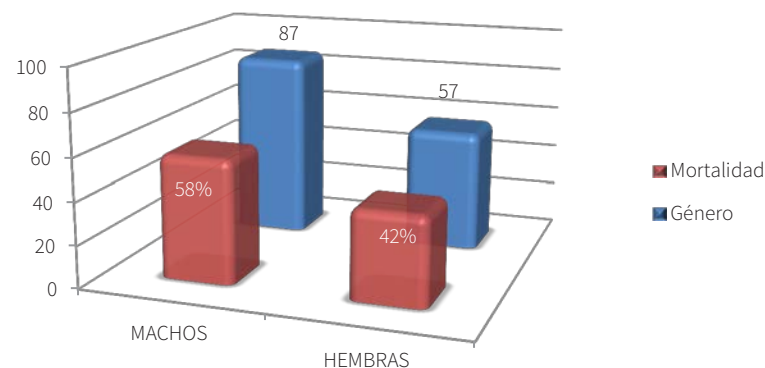


FIGURA 13
Índice mortalidad.
Fuente: Elaboración propia

Análisis estadístico

Una vez desarrollado el ensayo, en el que se evaluó la mortandad de los ejemplares en los tratamientos con las dosis letales establecidas T1 dosis baja (3,2 ppm), T2 dosis media (6,4 ppm), T3 dosis alta (12,8 ppm) y T4 testigo (agua laguna), se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos, con un CV de 12,56%.

La **TABLA 14** muestra la prueba Tukey al 5% obtuvo 3 grupos, y que el grupo A o tratamiento 3 (dosis alta) generó el mejor resultado que corresponde a la mortalidad del 91,66% de *Poecilia reticulata*, seguido del grupo AB o tratamiento 2 (dosis media), que corresponde a la mortalidad del 63,92% de la población como se muestra en la **FIGURA 14**.

TABLA 13. Análisis ADEVA variable plomo

| FV | GL | SC | CM | Fo | F0,05 |
|--------------------|--------|--------|-------|-------|-------|
| Total | 11 | 161,00 | 14,64 | | |
| Tratamientos | 3 | 155,67 | 51,89 | 77,83 | * |
| Error experimental | 8 | 5,33 | 0,67 | | |
| CV | 12,56% | | | | |

Fuente: Elaboración propia

TABLA 14. Análisis TUKEY variable Plomo por rangos

| Tratamientos | Promedio | Rango |
|------------------|----------|-------|
| T3 (dosis alta) | 11,0 | a |
| T2 (dosis media) | 7,67 | ab |
| T1 (dosis baja) | 6,33 | bc |
| T4 (testigo) | 1 | c |

Fuente: Elaboración propia

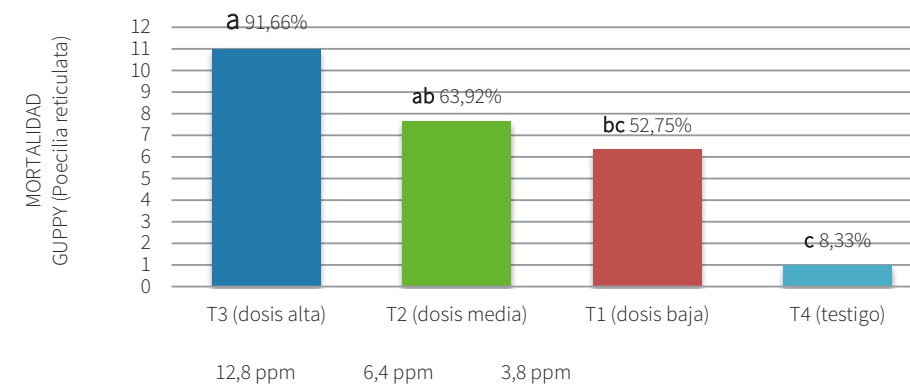


FIGURA 14
Promedios por tratamiento de plomo. Fuente: Elaboración propia

Estudio de la concentración del plomo en los peces una vez finalizado el ensayo

En la **FIGURA 15** se muestran las concentraciones de plomo de los diferentes tratamientos, por las cuales se evidenció la bioacumulación del metal en la especie. Comparados con el testigo (T4) que tiene 11,85 ppb, el tratamiento con la dosis alta (T3) presenta una concentración casi cuatro veces mayor (43,08 ppb), la dosis media (T2) es tres veces mayor (30,74 ppb) y la dosis baja es un poco más del doble del testigo (29,75 ppb).

La bioacumulación del plomo fue menor a la del cadmio, ya que su solubilidad en agua es mucho menor a la del cadmio, por lo que está menos disponible.

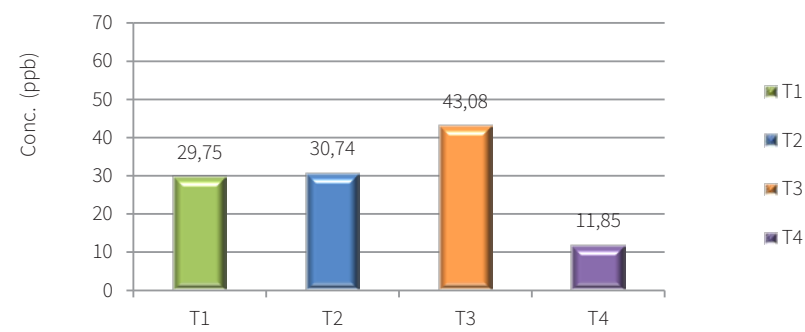


FIGURA 15

Acumulación de plomo en el pez.

Fuente: Elaboración propia

Conclusiones

Según los resultados de los análisis físicoquímicos, la calidad de agua de la laguna en los diferentes puntos de muestreo no es apta para la preservación de la flora y la fauna, el oxígeno disuelto no alcanza los límites mínimos permisibles; los procesos de eutrofización son rápidos y podrían provocar un ambiente anóxico con las implicaciones que eso originaría.

El contenido de cadmio y plomo presente en el agua de la laguna sobrepasa el límite máximo permisible según la normativa ecuatoriana, presentando concentraciones muy altas para la calidad del agua y poniendo así en peligro a las especies, que pueden sufrir alteraciones en su comportamiento y su capacidad respuesta de huida, así como de tipo genético (anormalidades del desarrollo y crecimiento).

P. reticulata presenta una buena adaptación a las concentraciones altas de metales pesados, pero no se pueden descartar los cambios mencionados anteriormente en caso de que sus concentraciones sigan aumentando.

El contenido de cadmio y plomo en los peces se encuentra dentro de los límites permisibles según el Reglamento N°466/2001/CE. (Comisión de las Comunidades Europeas), sin embargo, la especie *P. reticulata* acumula cadmio (concentraciones de hasta 0,0142 ppm) y plomo (concentraciones de hasta 0,0244 ppm), lo que le hace útil como un organismo bioindicador de contaminación por metales.

En los ensayos de ecotoxicidad, la dosis letal (DL_{100}) de Cadmio fue de 6,30 ppm, es decir, 6 veces mayor a las concentraciones encontradas en la especie, mientras que de plomo fue de 12,80 ppm, el doble de la concentración de cadmio. La relación entre concentración y absorción es directamente proporcional para el cadmio e inversamente proporcional para el plomo.

El índice de mortalidad a las 96 horas de exposición para cadmio fue de 94,16% con una dosis letal (DL_{100}) de 6,30 ppm, es decir, 126 veces más que el LMP (0,05ppm), mientras que para plomo fue de 91,66% con una dosis letal (DL_{100}) de 12,80 ppm, es decir, 64 veces mayor comparados con LMP (0,20 ppm), datos estos que muestran la tolerancia máxima que podrían resistir los ejemplares.

Con la dosis letal (DL_{100}) para cadmio y plomo se identificaron variaciones en el comportamiento de los peces, como agresividad, cambios en la pigmentación de la piel, pérdida de equilibrio, período de inactividad (letargo) y, finalmente, muerte de los individuos, las que no se evidenciaron en los testigos.

Los resultados obtenidos permiten conocer las dosis letales de cadmio (6.30 ppm) y plomo (12.80 ppm) que causan mortalidad en *P. reticulata*, lo que puede servir como un marco de referencia para el control de metales en cuerpos de agua con características similares.

Recomendaciones

Desarrollar programas de capacitación en la prevención ambiental con el fin de aumentar conocimientos, concienciación y acciones para evitar el aumento de la concentración de dichos metales en el sistema lacustre y minimizar los riesgos asociados con su exposición.

Aplicar monitoreos periódicos en aguas dulces para la detección temprana de altas tasas de mortalidad de las especies que habitan en estos medios para evitar afectaciones a la biodiversidad.

Indagar las fuentes principales de contaminantes de metales pesados para que se desarrollen planes de contingencia que permitan evitar la llegada de estos metales a la laguna.

Emplear a *P. reticulata* en otros estudios ecotoxicológicos que permitan analizar los procesos de bioacumulación y biomagnificación de redes tróficas de sistemas lacustres.

Referencias

- Aguirre, R. (2014) *Determinación de la toxicidad aguda con cadmio en peces (Poecilia reticulata)*. (Tesis de Grado). Universidad Técnica de Machala. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Ingeniería Acuícola.
- Albert, L. (2001) *Curso básico de toxicología ambiental*. 2ª Ed. Limusa, S. A. de C. V., México, D. F. 311 pp.

- Botello, A.; Redón, J.; Gold, G.; Agraz, C. (2005). *Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. Segunda Edición, p. 98-99, 346.
- Cisternas, M.; Araneda, A.; Retamal, O.; Urrutia, R. (1997) Variaciones históricas en las tasas de erosión-sedimentación de un cuerpo lacustre antropizado: utilización de geocronología radioisotópica. *Revista de Geografía Norte Grande*, 24(15), 1-156.
- Cordero, R. (2007) *Presencia de metales pesados en trucha (Salmo trutta Linnaeus: Salmonidae) en el lago de Tota (Boyacá, Colombia)*. Trabajo de grado. Universidad de los Andes. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia. 10p.
- Cousins, R. (1985) *Absorption, transport and hepatic metabolism of cooper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin*. *Physiological Review*. 65: 238-309.
- Chubatsu, L.; Meneghini, R. (1993) *Metallothionein protects DNA from oxidative damage*. *Biochemical Journal*. 291: 193-98.
- García, J. (2002) *Estado actual de la contaminación por metales pesados y pesticidas organoclorados en el parque natural de Monfragüe* (Disertación doctoral). Edita: Universidad de Extremadura Servicio de Publicaciones c/ Pizarro, 8 Cáceres 10071.
- Ismael (s.f) *El mundo guppy*. Descargado el 10 de mayo de 2016, de <http://www.elacuarismo.com/descargas/peces/El%20Mundo%20Guppy.pdf>.
- Levy, D.; Bosack, A. (2001) *Cómo y por qué la alimentación influye sobre la salud*. Buenos Aires, Editorial Kier S. A.
- Malitaxi, Y. (2016) *Evaluación de metales pesados plomo (Pb) y cadmio (Cd) en la especie tilapia (Tilapia mossambica) como bioindicador de calidad de agua mediante técnicas de absorción atómica en la laguna de Yahuarcocha, provincia de Imbabura* (Tesis de Ingeniería). Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra. Ibarra-Ecuador.
- Mera, M.; Shim, C. (2016) *Evaluación de la calidad de agua de la laguna de Yahuarcocha*. Proyecto de investigación. Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra. Ibarra-Ecuador.
- REGLAMENTO (CE) (2001) N° 466/2001 de la Comisión de las Unidades Europeas de 8 de marzo de 2001.
- TULSM. (2015). *Libro VI*, anexo 1.
- UNEP/FAO/IAEA (1986) *Test of the acute lethal toxicity of pollutants to marine fish and invertebrates*. Reference Methods for Marine Pollution Studies. No. 43 (draft). UNEP. 23 P.