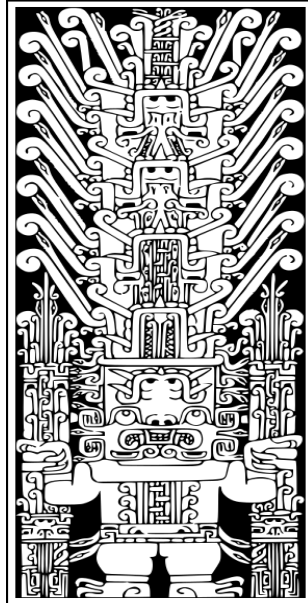


UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
ESCUELA UNIVERSITARIA DE POS GRADO



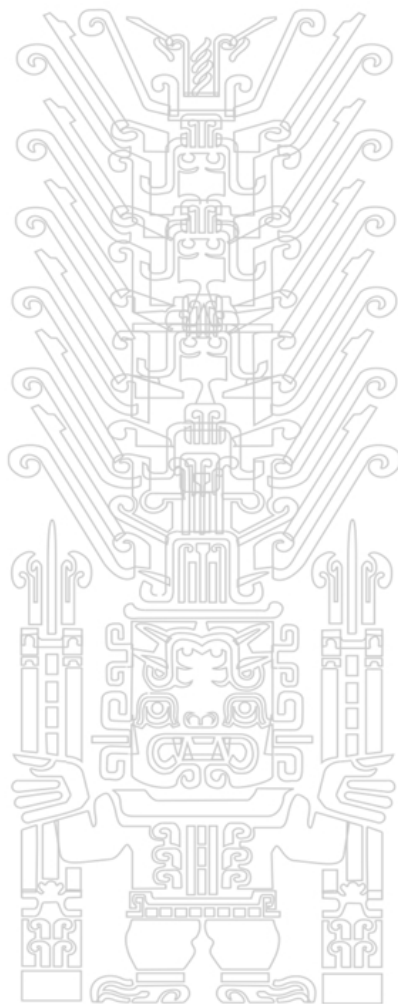
TESIS

“TOXICIDAD DE LOS METALES:  
ARSÉNICO, CADMIO, MERCURIO Y PLOMO  
SOBRE EL PEZ *PARACHEIRODON INNESI*  
NEON TETRA (CHARACIDAE)”

PRESENTADO POR:  
TOMAILLA TENAZOA JUAN VICTOR

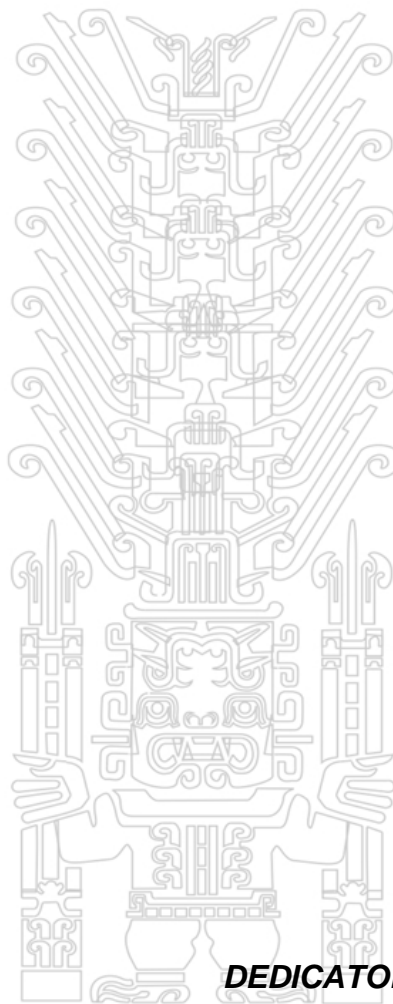
Para optar el grado académico de:  
MAESTRO EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Lima - Perú  
2018



Tesis publicada con autorización del autor  
No olvide citar esta tesis

**UNFV**

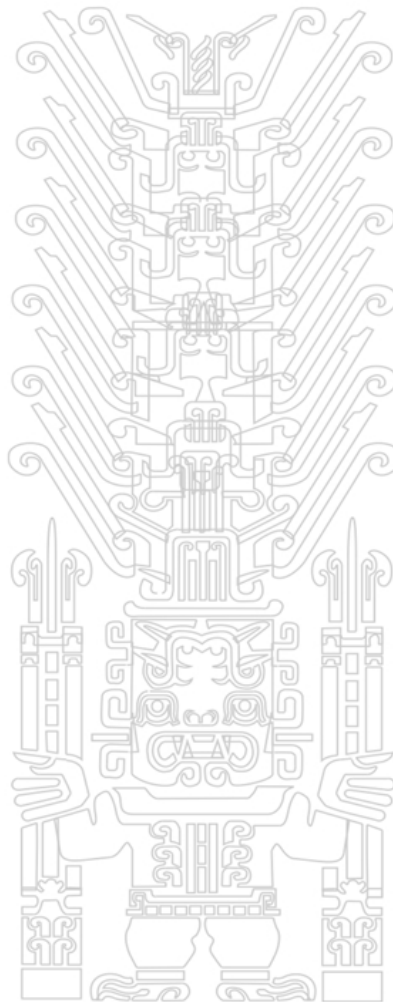


**DEDICATORIA:**

*A Dios, por permitirme desarrollar el presente estudio; y a mis queridos padres, Doris y Jorge, por todo su afecto y soporte constante.*

Tesis publicada con autorización del autor  
No olvide citar esta tesis

**UNFV**



**AGRADECIMIENTO:**

*Al Dr. José Iannacone, por su apoyo*

*continuo y orientación permanente*

*durante la elaboración del estudio.*

Tesis publicada con autorización del autor  
No olvide citar esta tesis

**UNFV**

## RESUMEN

La contaminación ambiental es un problema global, siendo los metales pesados los de mayor importancia; como, por ejemplo, arsénico, cadmio, mercurio y plomo. Para evaluar la toxicidad de los metales en el medio acuático, los peces son uno de los niveles tróficos empleados.

El objetivo del estudio fue evaluar la toxicidad del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre *Paracheirodon innesi*, mediante la determinación de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) y concentración efectiva media ( $CE_{50}$ ) para dos efectos subletales (nado extraño y movimiento opercular acelerado). Para cumplir el objetivo se realizaron bioensayos estáticos en laboratorio empleando individuos juveniles y como agentes tóxicos: arsenato de sodio, cloruro de cadmio, cloruro de mercurio y nitrato de plomo.

Pruebas exploratorias fueron desarrolladas para evaluar de manera preliminar la toxicidad de los metales sobre esta especie, y luego se llevaron a cabo las pruebas definitivas. Se determinó la  $CE/L_{50}$  con los programas TRAP y Excel-Probit. También se determinó la Concentración de Efecto No Observado (NOEC) y Concentración Mínima de Efecto Observado (LOEC), a través del análisis de varianza seguido de la prueba de Tukey, con el empleo del programa Info Stat. Además, se estimó la Concentración sin Efecto Pronosticada (PNEC).

Los valores de  $CL_{50}$  y  $CE_{50}$  (para ambos efectos) disminuyeron de manera continua de 24 h a 96 h para los distintos metales, a excepción de cadmio donde la disminución se dio de 24 h a 72 h para luego mantenerse hacia las 96 h.

Los registros de NOEC y LOEC fueron similares entre el efecto letal y los dos efectos subletales, mostrando una tendencia a la disminución a través del tiempo para arsénico, cadmio y plomo; para el caso del mercurio, los valores identificados a las 24 h, para ambos parámetros en los distintos efectos, se mantuvieron constantes hasta las 96 h.

Los cuatro metales evaluados mostraron el siguiente grado de toxicidad, en orden descendente: mercurio > cadmio > arsénico > plomo. Los valores de CE/L<sub>50</sub> de TRAP fueron ligeramente mayores a los de Excel-Probit. La CL<sub>50-96 h</sub> de estos metales fue 0,129; 23,1; 60,3 y 278 mg·L<sup>-1</sup> para Excel-Probit y 0,137; 29,4; 65,5 y 282 mg·L<sup>-1</sup> para TRAP; respectivamente.

Al comparar los valores de PNEC estimados con los ECA Cat-4 /E2 Río Selva, para los cuatro metales de interés, se puede indicar que la concentración límite del ECA para arsénico no es apropiada y su cumplimiento no aseguraría la conservación del medio acuático.

**Palabras clave:** bioensayo - concentración efectiva media - concentración letal media - toxicidad

## ABSTRACT

Environmental pollution is a global issue, being heavy metals the most important; such as, arsenic, cadmium, mercury and lead. To evaluate metals toxicity in aquatic medium, fish are one of the trophic levels used.

The study object was to evaluate arsenic, cadmium, mercury and lead toxicity on *Paracheirodon innesi*, through the determination of median lethal concentration and median effective concentration ( $LC_{50}/EC_{50}$ ) to two sublethal effects (strange swimming and accelerated opercular movement). To meet the goal static bioassays were carried out at laboratory, using juveniles and as toxic agents: sodium arsenate, cadmium chloride, mercury chloride and lead nitrate, with high purity.

Exploratory tests were developed to evaluate preliminarily metals toxicity on this specie, then there were carried out definitive essays. There were determined  $L/EC_{50}$  with TRAP and Excel-Probit programs. They were also determined No Observed Effect Concentration (NOEC) and Lowest Observed Effect Concentration (LOEC), using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test, with the use of Info Stat program. Besides, it was estimated Predicted No-Effect Concentration (PNEC).

$LC_{50}$  and  $LE_{50}$  (to both effects) values decreased continuously from 24 to 96 h for all metals, except cadmium where the reduction was from 24 to 72 h to then stay until 96 h.

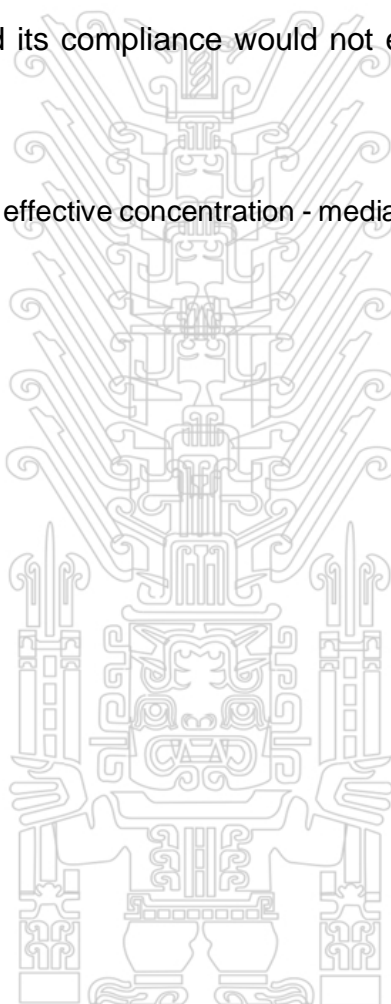
NOEC and LOEC values were similars between lethal effect and the two sublethal effect, showing a tendency to decline over time to arsenic, cadmium and lead; to

mercury, identified values to 24 h, to both parameters at different effects, kept constant until 96 h.

The four evaluated metals showed the next toxicity ranking: mercury > cadmium > arsenic > lead. TRAP's  $L/EC_{50}$  values were slightly higher than Excel-Probit's values.  $LC_{50-96h}$  for these metals were 0,129; 23,1; 60,3 and 278  $mg\cdot L^{-1}$  to Excel-Probit and 0,137; 29,4; 65,5 y 282  $mg\cdot L^{-1}$  to TRAP, respectively.

When comparing PNEC's estimated values with ECA Cat-4 / E2 Jungle Rivers, for the four metals of interest, it can be indicated that ECA's limit concentration to arsenic is inappropriate and its compliance would not ensure aquatic environment conservation.

**Key words:** bioessay - media effective concentration - media lethal concentration - toxicity.



## INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental es un problema mundial, donde la mayoría de contaminantes de mayor relevancia en los sistemas acuáticos son los metales pesados, debido a su toxicidad y acumulación en los organismos y a la biomagnificación a través de la cadena trófica (Shafaqat *et al.* 2014).

Los peces, entre otros organismos acuáticos, son utilizados ampliamente en los bioensayos para evaluar los efectos de los contaminantes en los ecosistemas lénticos y lóticos (Patwardhan & Ghaskadbi 2013); sin embargo, las experiencias con especies de peces Perú son escasas.

La finalidad del estudio fue evaluar la toxicidad del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre individuos juveniles de neón tetra *Paracheirodon innesi* (Myers 1936) mediante pruebas de laboratorio.

Para cumplir los objetivos establecidos se diseñó una estrategia para llevar a cabo los ensayos, constituida por actividades que fueron agrupadas en dos etapas: laboratorio y gabinete. La etapa de laboratorio abarcó acciones de preparación y realización de ensayos, mientras que la etapa de gabinete estuvo constituida por los métodos y técnicas de análisis.

La presente tesis se encuentra organizada en cinco capítulos: I) planteamiento del problema, II) marco teórico, III) método, IV) resultados y V) discusión.

El capítulo I abarca los antecedentes del problema y su planteamiento, establecimiento de los objetivos y justificación de la investigación, así como de sus limitaciones y restricciones.

El capítulo II comprende los antecedentes de la investigación, los fundamentos teóricos del estudio y el marco conceptual. Además, se indican las hipótesis y se describen las variables que se generan a partir de éstas.

El capítulo III establece el diseño de la investigación, se delimita la muestra, se detallan las técnicas de investigación y los instrumentos de recolección de datos, y las técnicas y métodos para el procesamiento y análisis de la información.

El capítulo IV presenta los resultados obtenidos a partir de la realización de los ensayos y análisis respectivo, y datos de soporte complementarios como valores de parámetros fisicoquímicos del agua y datos biométricos de peces empleados.

El capítulo V constituye la discusión los resultados obtenidos, las conclusiones de los hallazgos, las recomendaciones para futuros estudios y el listado de la literatura especializada revisada y referenciada a lo largo del documento.



# 1. ÍNDICE

	Pág.
PORTADA .....	i
DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTO .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vii
INTRODUCCIÓN .....	ix
ÍNDICE .....	xi
1. CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
1.1. Antecedentes del Problema .....	1
1.2. Planteamiento del Problema .....	3
1.2.1. Problema Principal .....	3
1.2.2. Problema Secundario .....	3
1.3. Objetivos .....	3
1.3.1. Objetivo General .....	3

Tesis publicada con autorización del autor  
No olvide citar esta tesis

**UNFV**

1.3.2.	Objetivos Específicos .....	3
1.4.	Justificación .....	4
1.4.1	Científica .....	4
1.4.2	Económica.....	4
1.4.1.	Ambiental .....	4
1.4.2.	Normativa .....	5
1.4.3.	Salud pública .....	5
1.5.	Limitaciones .....	6
2.	Capítulo II: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1.	Antecedentes de la Investigación.....	7
2.1.1.	Evaluaciones con <i>Paracheiroduon innesi</i> .....	7
2.1.2.	Evaluaciones toxicológicas de metales en otras especies .....	8
2.2.	Bases Teóricas .....	8
2.2.1.	Toxicidad (Gamez & Ramírez 2008).....	8
2.2.2.	Toxicidad de los metales (Rosas 2001) .....	9
2.2.3.	Bioensayos (Castillo 2004).....	10
2.2.4.	Relación dosis-respuesta (Albert 1997) .....	11
2.2.5.	Organismos para las pruebas – <i>Paracheiroduon innesi</i> .....	11
2.3.	Marco Conceptual .....	12
2.3.1.	Conceptos relacionados al problema .....	12
2.3.2.	Marco legal .....	15
2.4.	Hipótesis .....	15

2.4.1	Hipótesis principal .....	15
2.4.2.	Hipótesis secundaria .....	15
2.5	Variables .....	15
3.	CAPÍTULO III: MÉTODO .....	18
3.1.	Tipo.....	18
3.2.	Diseño de Investigación .....	20
3.3.	Estrategia de Prueba de Hipótesis .....	22
3.4.	Población .....	22
3.5.	Muestra.....	22
3.6.	Técnicas de Investigación.....	23
3.6.1.	Preparación de ensayos .....	23
3.6.2.	Ensayos preliminares .....	27
3.6.3.	Ensayos definitivos.....	33
3.7.	Instrumentos de Recolección de Datos.....	37
3.8.	Procesamiento y Análisis de Datos .....	39
3.8.1.	Métodos para evaluar la relación dosis-respuesta .....	39
3.8.2.	Métodos para evaluar la diferencia entre las respuestas a distintas concentraciones .....	41
3.8.3.	Concentración sin efecto pronosticada (PNEC) .....	42
3.8.4.	Biometría de Peces .....	42
3.8.5.	Parámetros Físicoquímicos.....	43
3.8.6.	Prueba de hipótesis .....	43

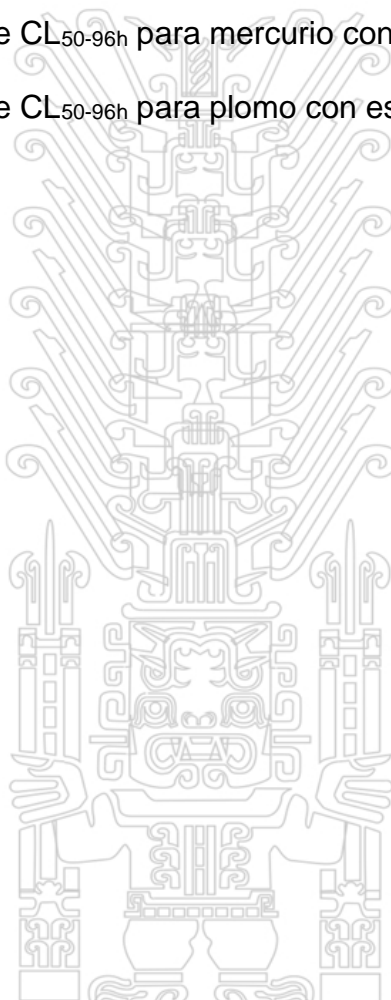
4. CAPÍTULO IV: RESULTADOS .....	44
4.1. Análisis e Interpretación .....	44
4.1.1. Ensayos preliminares .....	44
4.1.2. Ensayos definitivos-Efectos .....	48
4.1.3. Ensayos definitivos-Peces .....	60
4.1.4. Ensayos definitivos-Parámetros fisicoquímicos .....	62
4.2. Contrastación de Hipótesis .....	68
5. CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	69
5.1. Discusión .....	69
5.2. Conclusiones .....	79
5.3. Recomendaciones .....	80
5.4. Referencias Bibliográficas.....	81



## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 2-1: Operacionalización de las variables en la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	17
Tabla 3-1: Concentraciones de los ensayos exploratorios para determinar las concentraciones en los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	29
Tabla 3-2: Características de las sales empleadas en los ensayos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	29
Tabla 3-3: Concentraciones establecidas para los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	35
Tabla 3-4: Concentraciones empleadas en los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	36
Tabla 3-5: Estándares de Calidad Ambiental 2017 de la Categoría 4 / E2: Ríos de Selva	42
Tabla 4-1: Mortalidad de <i>P. innesi</i> por el arsénico en ensayos preliminares	45
Tabla 4-2: Mortalidad de <i>P. innesi</i> por el cadmio en ensayos preliminares	46
Tabla 4-3: Mortalidad de <i>P. innesi</i> por el mercurio en ensayos preliminares (1)	46
Tabla 4-4: Mortalidad de <i>P. innesi</i> por el mercurio en ensayos preliminares (2)	47
Tabla 4-5: Mortalidad de <i>P. innesi</i> por el plomo en ensayos preliminares	48
Tabla 4-6: Individuos (%) de <i>Paracheirodon innesi</i> con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con arsénico	49
Tabla 4-7: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en <i>Paracheirodon innesi</i> en los ensayos definitivos con arsénico	49
Tabla 4-8: Individuos (%) de <i>Paracheirodon innesi</i> con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con cadmio	53
Tabla 4-9: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en <i>Paracheirodon innesi</i> en los ensayos definitivos con cadmio	53
Tabla 4-10: Individuos (%) de <i>Paracheirodon innesi</i> con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con mercurio	56

Tabla 4-12: Individuos (%) de <i>Paracheirodon innesi</i> con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con plomo	59
Tabla 4-13: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en <i>Paracheirodon innesi</i> en los ensayos definitivos con plomo	59
Tabla 4-14: Datos de longitud (mm) y peso (mg) de los individuos de <i>Paracheirodon innesi</i> usados en los ensayos definitivos	61
Tabla 5-1: Comparación de CL <sub>50-96h</sub> para arsénico con especies de peces	75
Tabla 5-2: Comparación de CL <sub>50-96h</sub> para cadmio con especies de peces	76
Tabla 5-3: Comparación de CL <sub>50-96h</sub> para mercurio con especies de peces	77
Tabla 5-4: Comparación de CL <sub>50-96h</sub> para plomo con especies de peces	78



## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 2-1: Curva de relación dosis-respuesta	11
Figura 3-1: Etapas de la investigación de tipo cuantitativa	19
Figura 3-2: Diseño de ensayos exploratorios de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	28
Figura 3-3: Relación del peso del metal y compuesto	30
Figura 3-4: Proceso de elaboración de soluciones para ensayos exploratorios de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	32
Figura 3-5: Diseño de ensayos definitivos por metal de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez <i>Paracheirodon innesi</i> neón tetra”	34
Figura 3-6: Relación dosis-respuesta (TRAP)	40
Figura 3-7: Identificación de NOEC/LOEC con la prueba de Tukey	41
Figura 4-1: pH registrado en los ensayos definitivos con arsénico sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	63
Figura 4-2: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con arsénico sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	63
Figura 4-3: pH registrado en los ensayos definitivos con cadmio sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	64
Figura 4-4: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con cadmio sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	64
Figura 4-5: pH registrado en los ensayos definitivos con mercurio sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	66
Figura 4-6: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con mercurio sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	66
Figura 4-7: pH registrado en los ensayos definitivos con plomo sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	67
Figura 4-8: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con plomo sobre <i>Paracheirodon innesi</i>	67

## LISTA DE ANEXOS

Anexo A: Matriz de consistencia

Anexo B: Registro fotográfico de los equipos y materiales empleados y procedimientos realizados en los ensayos

Figura 1B: Pecera para aclimatación de peces

Figura 2B: Kit de dureza Hanna (HI3812)

Figura 3B: Medidor portátil de temperatura, conductividad y pH, Hanna (HI98129)

Figura 4B: Kit JBL para la medición de amonio, nitritos y nitratos

Figura 5B: Balanza AND modelo gr-2000, usada para el pesado de las sales y peces

Figura 6B: Medición de neones con el uso de regla

Figura 7B: Vista de ensayo definitivo para cadmio, cinco concentraciones y un blanco, cada uno con cuatro réplicas

Anexo C: Fichas de Registro de Información

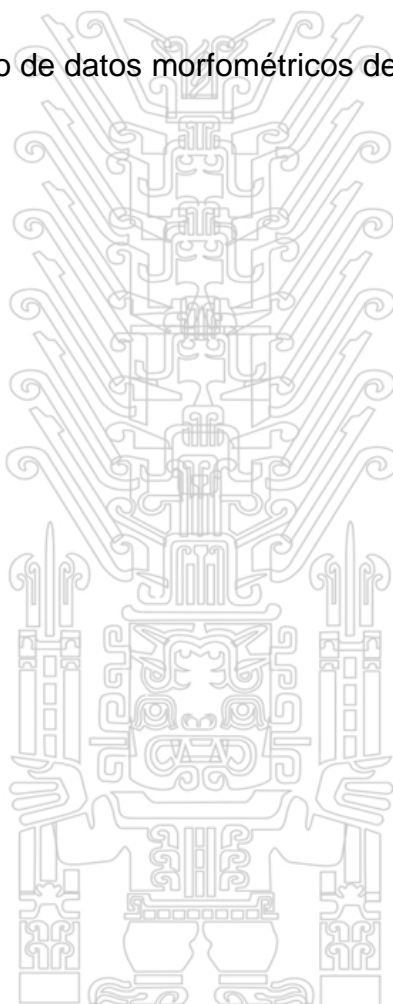
Figura 1C: Ficha de registro de información para la etapa de aclimatación de los peces en la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”

Figura 2C: Ficha de registro de información para la etapa de los ensayos preliminares de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”

Figura 3C: Ficha de registro de información para la etapa de los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”

Figura 4C: Ficha de registro de parámetros fisicoquímicos en los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”

Figura 5C: Ficha de registro de datos morfométricos de peces



# 1. CAPÍTULO I:

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Antecedentes del Problema

Los metales pesados, como por ejemplo, arsénico, cadmio, mercurio y plomo, son considerados los más tóxicos a los humanos, peces y ambiente (Pandey & Madhuri 2014). Los metales producen efectos biológicos adversos en los organismos, siendo estos letales o subletales (Solomon 2008).

Los efectos tóxicos de los metales pesados se manifiestan afectando la tasa de crecimiento, funciones fisiológicas, reproducción y mortalidad en peces. Los metales pueden ingresar a los peces mediante tres vías: branquias, tracto digestivo y superficie de la piel. Las agallas son la vía a través de la cual se produce la mayor tasa de ingreso de los metales desde el agua y la superficie de la piel representa el menor porcentaje (Shafaqat *et al.* 2014).

La especie *Paracheirodon innesi*, conocida comúnmente como neón tetra, es una de las especies más valiosas en el comercio de peces ornamentales (Sanaye, Singh & Tibile 2012). La mayoría de los peces de esta especie, disponibles para la

venta son importados del sudeste asiático, donde son criados en granja de peces, o de Sudamérica, donde son capturados del medio natural (Kucharczyk *et al.* 2010).

El arsénico afecta los parámetros hematológicos, bioquímicos e ionoregulatorios de los organismos. Exposiciones continuas de organismos acuáticos, incluyendo peces, a bajas concentraciones de este metal ha dado como resultado la bioacumulación, estando focalizada en hígado y riñón en los peces. Las actividades antrópicas han contribuido a que se incremente su presencia en el ambiente, destacando la minería (Kumari *et al.* 2016).

El cadmio produce efectos similares en los peces y en los humanos, los cuales incluyen deformaciones del sistema esquelético y daño en el funcionamiento del riñón en peces. Este metal es más tóxico en agua dulce, ya que en agua salada forma compuestos que son menos biodisponibles para los organismos (Bradl 2005; Wright & Welbourn 2002).

El mercurio en los peces, cuando existe una toxicidad aguda se manifiesta en el deterioro del recubrimiento de las branquias, incremento del movimiento respiratorio, pérdida de equilibrio e inactividad seguida finalmente por la muerte. Exposiciones prolongadas (toxicidad crónica) se manifiestan en detrimento de la reproducción, crecimiento, comportamiento, metabolismo e intercambio de oxígeno (DiFrancesco & Shinn 2001).

El plomo, a través de una toxicidad aguda, genera en los peces efectos hematológicos y neurológicos. En el primer caso, involucran una mortalidad temprana de células rojas maduras de la sangre. En el segundo caso, estos incluyen un deterioro del comportamiento del aprendizaje, oscurecimiento de la

## 1.2. Planteamiento del Problema

### 1.2.1. Problema Principal

- ¿El arsénico, cadmio, mercurio y plomo generan efectos tóxicos sobre el pez “neón tetra” *Paracheiroduon innesi* (Characidae)?

### 1.2.2. Problema Secundario

- ¿Estos cuatro metales causan un efecto letal sobre *Paracheiroduon innesi*?
- ¿Los cuatro metales producen efectos subletales sobre *Paracheiroduon innesi*?

## 1.3. Objetivos

### 1.3.1. Objetivo General

- Evaluar la toxicidad de los metales arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez “neón tetra” *Paracheiroduon innesi* (Characidae).

### 1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) a diferentes tiempos de exposición para cuatro metales sobre *Paracheiroduon innesi* a través de ensayos toxicológicos.
- Obtener la concentración efectiva media ( $CE_{50}$ ) para dos efectos subletales a diferentes tipos de exposición para cuatro metales sobre *Paracheiroduon innesi* a través de ensayos toxicológicos.

## **1.4. Justificación**

### **1.4.1 Científica**

Los peces vienen siendo empleados como indicadores biológicos de la calidad del agua de los ecosistemas acuáticos debido a su sensibilidad a los distintos agentes contaminantes (Naigaga *et al.* 2011). El estudio genera nueva información para la ciencia, de tal forma que se fortalezca la capacidad científica y tecnológica nacional. A la fecha no se han realizado estudios previos donde se hayan empleado ejemplares de una especie dulceacuícola de Perú, tal como *P. innesi*, para evaluar los efectos tóxicos de los metales presentes en los ecosistemas acuáticos en peces.

### **1.4.2 Económica**

Los ensayos toxicológicos pueden ser empleados como una herramienta de evaluación temprana de posibles contaminantes en el ambiente, a partir de los cuales pueden ser aplicadas pruebas físicas y químicas de mayor costo económico (Tardiff & Goldstein 1991). El costo monetario que involucrará llevar a cabo todo el estudio será reducido respecto a la información valiosa que se generará.

#### **1.4.1. Ambiental**

Los contaminantes liberados al ambiente son evaluados a través de ensayos toxicológicos con la finalidad de preservar la integridad de los organismos y por ende de los ecosistemas (Shanky 2013). Por ello el presente estudio empleará a *P. innesi*, especie que habita ecosistemas acuáticos en el territorio nacional y algunos países aledaños. Por otro lado, el estudio planteado es ecológicamente

naturaleza, los residuos que se generen serán segregados y dispuestos apropiadamente.

#### **1.4.2. Normativa**

En el Perú, la normativa ambiental está enfocada en las concentraciones máximas de elementos, compuestos químicos o agentes patógenos biológicos que deben contener las emisiones/efluentes y el ambiente, donde las técnicas analíticas, principalmente físicas/químicas permiten identificarlos, pero no logran evaluar el efecto que tendrán sobre los seres vivos que habitan los ecosistemas receptores.

Sin embargo, en un país cercano como Brasil, por ejemplo, se requieren ensayos toxicológicos previos a la descarga de efluentes en cuerpos de agua receptores, tal como se indica en la Resolución N° 430 del Consejo Nacional del Medio Ambiente, publicado el 13 de mayo del 2011. Por tal motivo, los ensayos toxicológicos tienen un papel relevante y complementario a las técnicas químicas analíticas, pudiendo ser empleadas como herramientas a incluir en la normativa ambiental nacional.

#### **1.4.3. Salud pública**

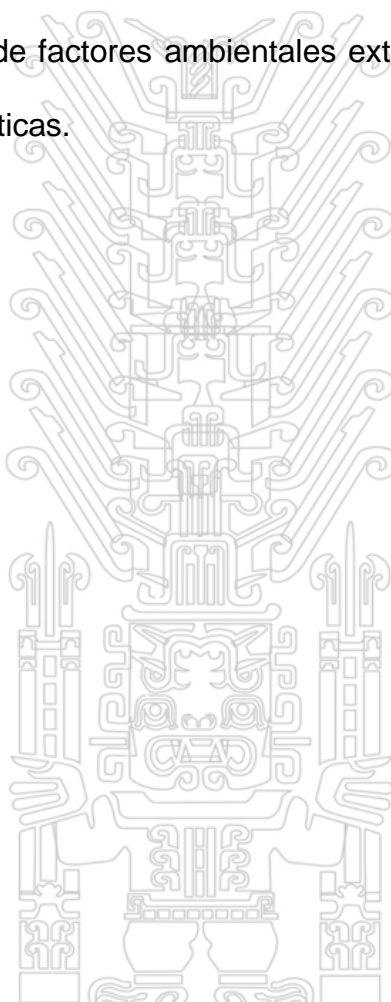
Los resultados obtenidos del estudio estarán disponibles para que las distintas entidades puedan evaluar su inclusión en el marco de la regulación y gestión integral de los recursos hídricos, que involucra su uso por parte de la población, la cual podría resultar afectada por la contaminación con metales del recurso hídrico.

Los efectos de los metales en el ser humano se encuentran vinculados a la reacción química de éstos con las proteínas estructurales de las células, las enzimas y los sistemas de la membrana celular; atacando la piel y otros sistemas como:

pulmonar, renal, nervioso, esquelético, entre otros.

## 1.5. Limitaciones

Los resultados obtenidos del estudio no podrán ser extrapolados para otros metales, ni para organismos dulceacuícolas de otros niveles tróficos. Asimismo, se debe tomar en cuenta que los hallazgos conseguidos fueron bajo condiciones controladas de laboratorio, por lo que podrían ligeramente diferenciarse de lo que suceda en un cuerpo de agua de manera natural, ya que estos presentan un alto dinamismo con influencia de factores ambientales externos que varían a lo largo del año entre épocas climáticas.



## 2. CAPÍTULO II:

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la Investigación

##### 2.1.1. Evaluaciones con *Paracheirodon innesi*

De acuerdo a la revisión de literatura disponible, la especie *P. innesi* ha sido empleada para estudios ecotoxicológicos únicamente en Perú hasta la fecha, con algunas sustancias tales como: el plaguicida carbofurano, donde se identificó una Concentración Letal media ( $CL_{50}$ ) a 96 horas (h) de  $0,022 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Iannacone *et al.* 2011); el insecticida carbámico cartap, donde la  $CL_{50}$  a 3 horas fue de  $< 0,02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Iannacone *et al.* 2007a); y del insecticida metamidofos, obteniéndose una  $CL_{50-96h}$  para dos formulaciones del mercado nacional consideradas como extremadamente y altamente peligroso,  $20,56 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $10,13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente (Iannacone *et al.* 2007b). No obstante, no se cuenta con estudios donde esta especie haya sido expuesta previamente a metales pesados.

## 2.1.2. Evaluaciones toxicológicas de metales en otras especies

De manera referencial, a continuación, se describen las  $CL_{50}$  obtenidas de algunas evaluaciones toxicológicas a 96 h de exposición realizadas con los cuatro metales de interés (arsénico, cadmio, mercurio y plomo) y en dos especies de pez: pez zebra *Danio rerio* (Hamilton & Buchanan 1822) y trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum 1792).

Para el arsénico, específicamente el trióxido de arsénico ( $As_2O_3$ ) se ha registrado una  $CL_{50-96h}$  de  $15,30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para el pez zebra (Tisler & Zagorc-Kocan 2002) y  $21 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para la trucha arco iris (Rankin & Dixon 1994).

Respecto al cadmio, empleando cloruro de cadmio, se obtuvo una  $CL_{50-96h}$  de  $3,30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para el pez zebra (Chouikhi 1979) y  $0,089 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para la trucha arco iris (Mebane *et al.* 2008).

En relación al mercurio, considerando el cloruro de mercurio, se identificó para el pez zebra y trucha arco iris una  $CL_{50-96h}$  de  $0,140 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Wang *et al.* 2013) y  $0,193 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Buhl y Hamilton 1991), respectivamente.

Para el caso del plomo, se obtuvieron valores de  $CL_{50-96h}$  para el pez zebra de  $0,052 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Alsop & Wood 2011) y para la trucha de  $0,140 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Mebane *et al.* 2008).

## 2.2. Bases Teóricas

### 2.2.1. Toxicidad (Gamez & Ramírez 2008)

El término toxicidad se emplea para describir la naturaleza de los efectos perjudiciales producidos y las condiciones necesarias para su producción. La

toxicología estudia las relaciones entre la cantidad de sustancia introducida en el organismo y el efecto biológico obtenido, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo. Esta ocurre toda vez que una sustancia entra en contacto con una superficie corporal como la piel, los ojos o la mucosa del sistema digestivo o respiratorio.

Existen varios tipos de toxicidad, entre los que se tienen: toxicidad aguda, cuando la exposición y los efectos se dan en pocas horas o días; toxicidad subcrónica, la exposición es entre semanas y un par de meses; y toxicidad crónica, implica una exposición mayor a 3 meses y pudiendo llegar a varios años.

### **2.2.2. Toxicidad de los metales (Rosas 2001)**

En los sistemas acuáticos se disuelven numerosas sales y sustancias de acuerdo a sus características, entre ellas su grado de solubilidad. La presencia en el terreno de diferentes materiales y estructuras geológicas son fuente de una gran variedad de iones disueltos en aguas superficiales, siendo algunos más abundantes que otros. En las aguas superficiales continentales predominan los siguientes tipos de iones:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ; mientras que los metales se encuentran en niveles de trazas. Algunos de los metales son necesarios para el desarrollo apropiado de las funciones fisiológicas de los seres vivos.

Las actividades antrópicas han contribuido a la aceleración y al incremento de ingreso de metales pesados y contaminantes al medio natural. Uno de los componentes químicos potencialmente más tóxicos son los metales pesados y entre ellos se encuentran: Sb, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb, Se y Zn. Los metales se encuentran entre los tóxicos más antiguos conocidos por el hombre, el grado de toxicidad varía entre los metales, ya que estos pueden ingresar a los seres vivos

### **2.2.3. Bioensayos (Castillo 2004)**

Los ensayos biológicos (bioensayos) son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos.

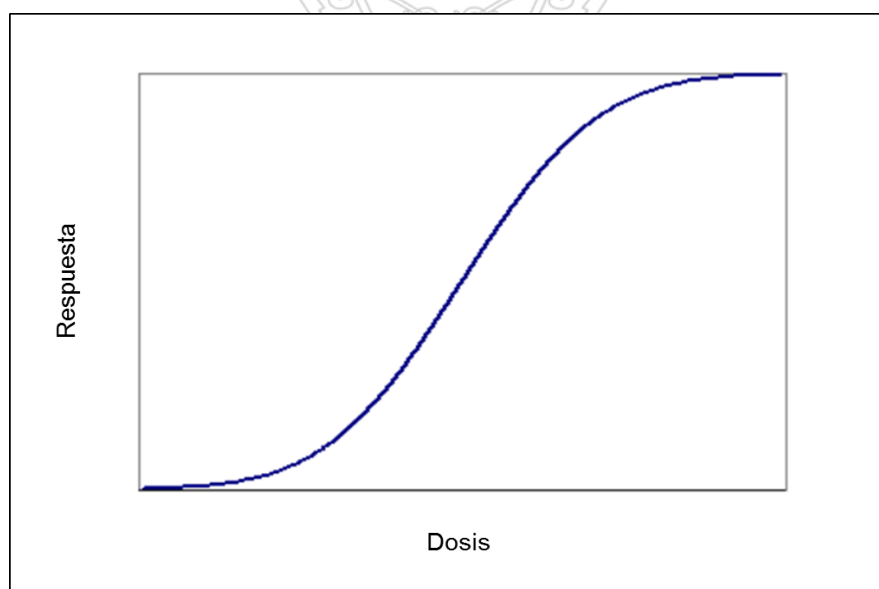
Los bioensayos de toxicidad aguda cuantifican las concentraciones letales de un tóxico a una especie en particular. El valor calculado se denomina Concentración Letal Media (CL<sub>50</sub>), y representa la concentración que causa la muerte al 50 % de la población experimental, en un tiempo determinado (generalmente 48 o 96 h).

Estos tipos de bioensayos pueden ser de dos tipos: estáticos, donde las pruebas se llevan a cabo sin la renovación continua de la solución; y continuos, donde la solución de prueba circula continuamente. Los bioensayos estáticos se realizan con o sin renovación de la solución de prueba.

Los bioensayos de toxicidad aguda de tipo estáticos sin renovación de solución, son ampliamente usados a nivel mundial y hasta existen protocolos estandarizados para varias especies, generalmente de Norteamérica, ya que se han obtenido resultados exitosos a lo largo del tiempo. No obstante, actualmente se recalca la importancia de realizarlas con especies que habitan los ecosistemas potencialmente a ser afectados.

#### 2.2.4. Relación dosis-respuesta (Albert 1997)

Se conoce como “dosis-respuesta” a la correspondencia que existe entre una dosis administrada y el número de individuos de un grupo expuesto que mostraron algún efecto. Se espera que al incrementarse la dosis se incremente el número de individuos afectados. En la Figura 2-1 se muestra de manera esquemática una curva de distribución de la relación dosis-respuesta.



Fuente: Albert 1997

**Figura 2-1: Curva de relación dosis-respuesta**

Se puede obtener varias curvas dosis-respuesta para un solo agente tóxico, una curva para cada tipo de efecto. La forma de la curva generada por la relación dosis-respuesta puede variar dependiente del tipo de agente tóxico y de los efectos a evaluar.

#### 2.2.5. Organismos para las pruebas – *Paracheirodon innesi*

Esta especie pertenece a la familia Characidae y al orden Characiformes. Habita los ríos y quebradas de aguas negras y blancas, generalmente de características

Tesis publicada con autorización del autor  
No olvide citar esta tesis

UNFV

principal y tributarios de la cuenca del Amazonas en Brasil, Colombia y Perú. Ha sido registrado en Perú en los ríos Putumayo y Ucayali (Palacios *et al.* 2015; Wilson *et al.* 2016).

Presenta un cuerpo de forma ahusada, aletas transparentes, con la aleta anal ligeramente más larga y fina que la dorsal. Posee una pequeña aleta adiposa detrás de la dorsal que lo ayuda a estabilizar la natación (Sanage *et al.* 2008). Tiene una franja azul fosforescente que recorre su cuerpo desde la boca hasta la aleta adiposa. La parte inferior de un color rojo luminoso que va desde la parte anterior hasta la mitad de su cuerpo. Los individuos adultos llegan a tener una longitud total aproximada de hasta 4 centímetros. Este es un pez omnívoro (Palacios *et al.* 2015).

Comúnmente es denominado neón tetra, es una especie muy apreciada en la acuariofilia por su carácter pacífico, su color llamativo y su desplazamiento en cardúmenes que resaltan la vida dentro de los acuarios (Palacios *et al.* 2015). Desde hace años viene siendo empleada en estudios donde se ha evaluado condiciones fisiológicas relacionadas a los cambios cromatográficos por intensidad de luz, formas parasitarias que lo invaden y tolerancia a condiciones ácidas (Lythgoe & Shand 1983; Iannacone *et al.* 2007a), así como evaluaciones de la morfología de sus agallas (Wilson *et al.* 2016).

## 2.3. Marco Conceptual

### 2.3.1. Conceptos relacionados al problema

**Agudo:** ocurre dentro de un periodo corto (minutos, horas o algunos días) en relación con el periodo de vida del organismo de ensayo (Castillo 2004).

**Arsénico:** es un elemento natural que se encuentra comúnmente en forma de impurezas en los minerales metálicos y que se produce a escala comercial para su utilización en plaguicidas, protectores para madera y aleaciones metálicas (Realidad Minera 2017).

**Bioensayo:** método para evaluar la potencia relativa de un agente sobre organismos vivos, mediante la comparación del efecto del agente con el de una solución patrón o “estándar” (Morales & Blanco 2011).

**Cadmio:** elemento que generalmente se encuentra como mineral combinado con otras sustancias tales como el oxígeno, cloro o azufre. Tiene muchos usos incluyendo baterías, pigmentos, revestimientos para metales y plásticos (ATSDR 2017).

**CE<sub>50</sub>:** concentración efectiva media, es la concentración del material en agua, suelo o sedimento que genera un efecto no letal específico del 50% de los organismos de ensayo (Castillo 2004).

**CL<sub>50</sub>:** concentración letal media, es la concentración de un contaminante en un medio a la cual se pronostica que afectará de manera letal al 50% de los organismos expuestos (Gamez y Ramirez 2008).

**Contaminante:** sustancia introducida en el ambiente como resultado, por lo menos en forma parcial, de la actividad humana y que produce efectos adversos no deseados sobre los organismos y el ecosistema (Vera 2012).

**Control:** es un tratamiento en una investigación que duplica todos los factores que puedan afectar el resultado, excepto la condición que está siendo investigada

**LOEC:** *Lowest Observed Effect Concentration*, es la concentración más baja a la cual se observa algún efecto (Palao 2017).

**Metal pesado:** es un elemento químico metálico que tiene una densidad igual o mayor a cinco veces a la densidad del agua, que es tóxico a concentraciones bajas (Perez 2012).

**Mercurio:** elemento que se encuentra naturalmente en el ambiente, se obtiene principalmente del cinabrio. Se usa en instrumentos de medida, electrónica, catalizadores y en la metalurgia del oro y plata, entre otros (Wikipedia 2017).

**NOEC:** *No Observed Effect Concentration*, es la concentración a la cual no se observa efecto (Castillo 2004).

**Plomo:** elemento que es encontrado comúnmente en forma de sulfuros. La mayor parte proviene de actividades como la minería, manufactura industrial y de quemas combustibles fósiles. Se usa en la fabricación de baterías, municiones, productos de metal (cañerías y soldaduras) y en láminas de protección contra los rayos x (Marines 2006).

**PNEC:** *Predicted No Effect Concentration*, es la concentración sin efecto pronosticada (Nanorisk 2016).

**Tóxico:** sustancia que puede producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo, alterando sus equilibrios vitales (Contelles 2011).

**Toxicidad:** es la capacidad de una sustancia de causar algún efecto nocivo sobre organismos vivos (Gamez y Ramirez 2008).

**Toxicidad aguda:** efecto adverso (letal o subletal) inducido sobre los organismos de ensayo en prueba durante un periodo de exposición del material de ensayo, usualmente de pocos días (Castillo 2004).

### 2.3.2. Marco legal

En el ámbito nacional, los bioensayos en la actualidad no están contemplados ni regulados por la normativa ambiental vigente, de los distintos sectores. A nivel internacional, existe una amplia legislación sobre el uso de los bioensayos, así por ejemplo en Brasil, la realización de estos es requerida antes de verter efluentes en los cuerpos de agua receptores, de acuerdo a lo señalado en la Resolución N° 430 del Consejo Nacional del Medio Ambiente, publicado el 13 de mayo del 2011.

## 2.4. Hipótesis

### 2.4.1 Hipótesis principal

- El arsénico, cadmio, mercurio y plomo no generan efectos tóxicos sobre el pez “neón tetra” *Paracheirodon innesi*.

### 2.4.2. Hipótesis secundaria

- El arsénico, cadmio, mercurio y plomo no generan un efecto tóxico letal sobre el pez “neón tetra” *Paracheirodon innesi*.
- El arsénico, cadmio, mercurio y plomo no generan efectos tóxicos subletales sobre el pez “neón tetra” *Paracheirodon innesi*.

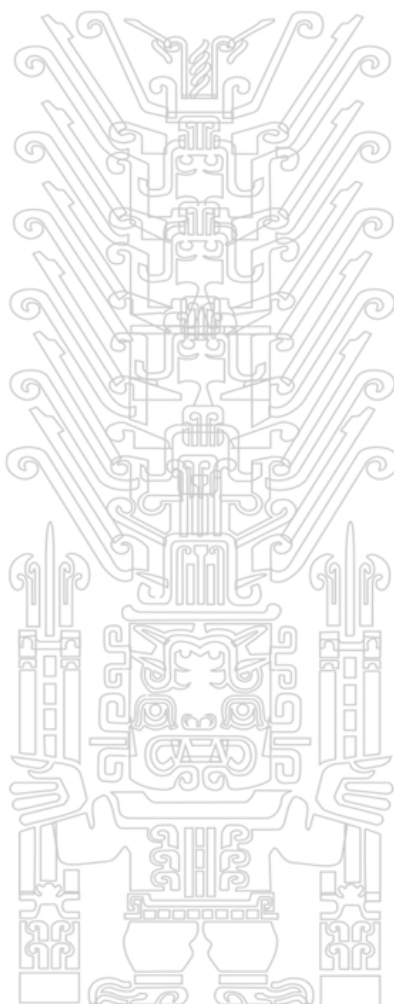
## 2.5 Variables

Se identificaron cuatro variables, que se presentan en la Tabla 2.1

Tesis publicada con autorización del autor  
operacionalización de las variables. Asimismo, en el Anexo A se presenta la matriz  
No olvide citar esta tesis

**UNFV**

de consistencia, en la cual se puede apreciar la coherencia de la información del problema, objetivos, hipótesis y variables.



**Tabla 2-1: Operacionalización de las variables en la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Valor final	Clasificación		Nivel de medición
					Función	Naturaleza	
Concentración (de metal)	Magnitud que expresa la cantidad de una sustancia por unidad de volumen	Cantidad de metal disuelto en un litro de agua empleada para elaborar las soluciones de ensayo	Peso	mg	Independiente	Cuantitativa	Continua
			Volumen	mL	Independiente	Cuantitativa	Continua
Pez	Vertebrado acuático, de respiración branquial, generalmente con extremidades en forma de aleta	Organismo que se empleará para las pruebas de toxicidad con metales	Individuos	Número	Independiente	Cuantitativa	Continua
Efecto letal	Causa la muerte por acción directa como consecuencia de la exposición a una determinada concentración del agente tóxico	Es la muerte de los peces originada por acción de alguno de los metales evaluados	Individuos muertos	Número	Dependiente	Cuantitativa	Continua
			Tiempo	Horas	Independiente	Cuantitativa	Continua
Efecto subletal	Se produce por debajo del nivel que causa la muerte directamente, como resultado de la exposición a una determinada concentración del agente tóxico	Es el nado extraño o movimiento opercular de los peces provocado a causa de los metales de interés	Individuos con nado extraño	Número	Dependiente	Cuantitativa	Discreta
			Individuos con movimiento opercular	Número	Dependiente	Cuantitativa	Discreta
			Tiempo	Horas	Independiente	Cuantitativa	Continua

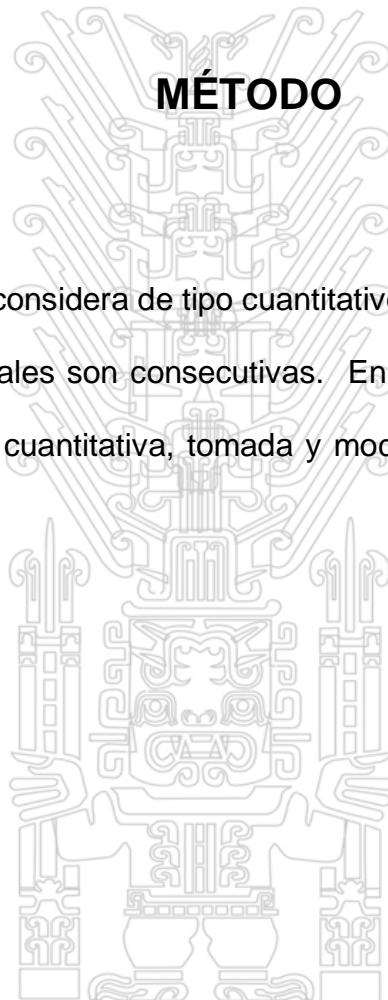
Fuente: Elaboración propia

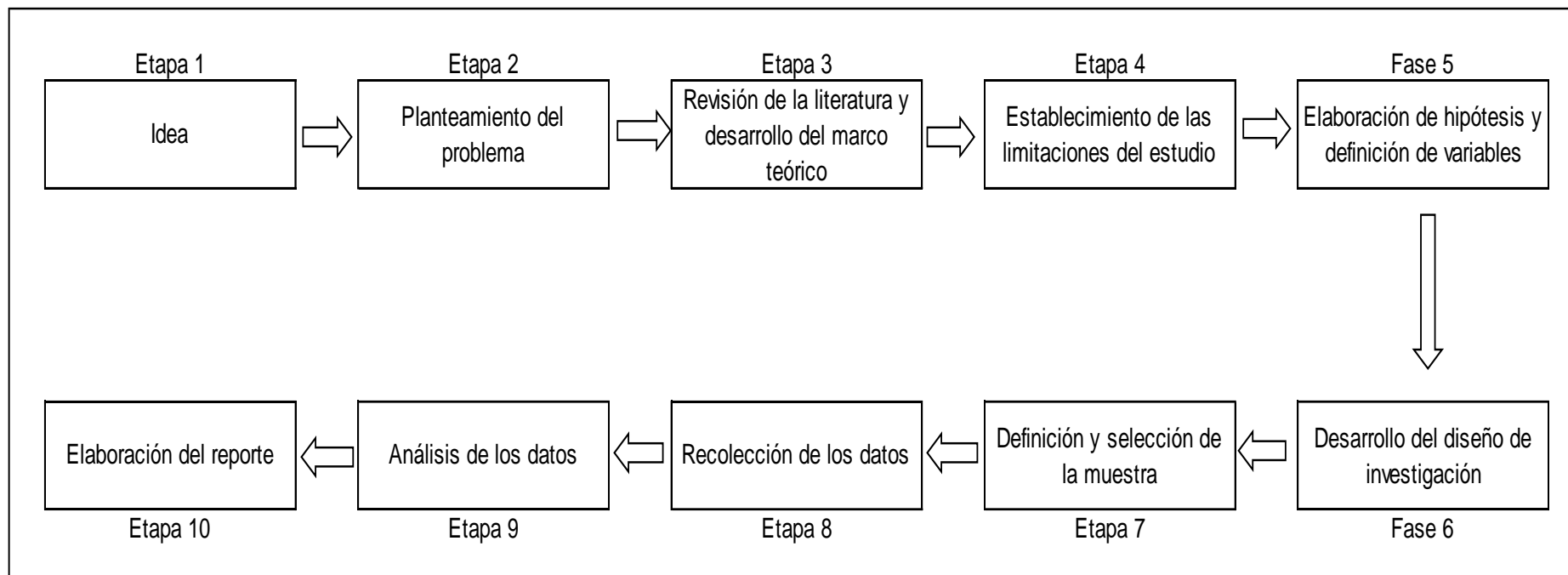
## 3. CAPÍTULO III:

### MÉTODO

#### 3.1. Tipo

El estudio desarrollado se considera de tipo cuantitativo, ya que se han seguido un conjunto de etapas, las cuales son consecutivas. En Figura 3-1 se muestran las etapas de la investigación cuantitativa, tomada y modificada de Hernández *et al.* (2010).





Fuente: Hernández *et al.* 2010

**Figura 3-1: Etapas de la investigación de tipo cuantitativa**



### 3.2. Diseño de Investigación

El presente estudio se ajustó a un diseño cuantitativo-experimental puro, ya que se propusieron pruebas de laboratorio donde se dispusieron peces en soluciones a distintas concentraciones de varios metales, para evaluar sus efectos.

Las actividades fueron agrupadas en dos etapas:

- **Laboratorio**, abarcó las acciones comprendidas para la preparación y realización de los ensayos; y
- **Gabinete**, estuvo constituida por los métodos y técnicas de análisis de la información registrada en los ensayos.

La etapa de laboratorio estuvo comprendida por tres fases:

- **Preparación de ensayos**, constituyó la implementación de las instalaciones con equipos y materiales apropiados;
- **Ensayos preliminares**, constituyó la evaluación exploratoria de la toxicidad de los metales en la especie objetivo; y
- **Ensayos definitivos**, constituyó las pruebas finales para la determinación de la toxicidad letal y subletal de los metales.

Los métodos y técnicas de análisis de la etapa de gabinete se agruparon en:

- **Métodos para evaluar la relación dosis-respuesta;**
  - Concentración letal media, ( $CL_{50}$ ), calculada con el programa *Toxicity Relationship Analysis Program* (TRAP) de la *United State Environmental Protection Agency* (US EPA 2015) y mediante la función Probit contenida

en una plantilla de Excel provista por Raj Alpha (2017); y

- Concentración efectiva media, ( $CE_{50}$ ), calculada con el programa TRAP y mediante la función Probit contenida en una plantilla Excel;
- **Métodos para evaluar la diferencia entre las respuestas a distintas concentraciones;**
  - Concentración de efecto no observado, *No observed effect concentration* (NOEC), estimada a partir de las concentraciones y efectos ensayados mediante la prueba de Tukey y el uso del programa Info Stat;
  - Concentración mínima de efecto observado, *Lowest observed effect concentration* (LOEC), obtenida a partir de las concentraciones y efectos ensayados, a través de la prueba de Tukey y el uso del programa Info Stat; y
  - Concentración sin efecto pronosticada, *Predicted No Effect Concentration* (PNEC), calculada entre el NOEC y un factor de seguridad establecido.

El detalle de las actividades de laboratorio se presenta en la sección 3.7. Técnicas de investigación, mientras que las especificaciones de las actividades de gabinete se encuentran en la sección 3.9. Procesamiento y análisis de datos.

Para las distintas actividades, tanto de laboratorio como de gabinete, se tomaron en cuenta los lineamientos de United States Environmental Protection Agency - USEPA (2002), The Organization for Economic Co-operation and Development - OECD (1992), Iannacone *et al.* (2007a) y Ramirez y Mendoza (2008).

### 3.3. Estrategia de Prueba de Hipótesis

Para poder aceptar o rechazar las hipótesis planteadas en la sección 2.4, a las cuales denominaremos hipótesis nulas ( $H_0$ ), se plantean los siguientes pasos:

- Generar hipótesis alternativas ( $H_i$ ) a las hipótesis nulas planteadas;
- Establecer el nivel de significancia ( $\alpha$ ), que se define como la probabilidad de error al aceptar  $H_0$ , 5% para este caso.
- Evaluar los resultados de los ensayos a través del análisis de varianza (ANDEVA) y contrastar el valor estadístico de Fisher (F) calculado y teórico;
- Aceptar o rechazar las hipótesis nulas  $H_0$ , con el nivel de significancia establecido, en base a los resultados de la comparación de los valores del estadístico F.

### 3.4. Población

La población para el estudio estuvo constituida por todos los individuos de la especie *P. innesi* que habitan los cursos de agua de hábitat natural.

### 3.5. Muestra

En la presente investigación la muestra estuvo conformada por un total de 1 500 individuos juveniles de la especie *P. innesi*, capturados en su medio natural (quebradas) de la región Loreto, aclimatados y finalmente empleados en los ensayos de toxicidad.

Los peces fueron colectados por Aquarium Panduro, la cual es una empresa comercializadora de peces ornamentales que cuenta con permiso de colecta de la

tal como lo establece el Decreto Supremo N° 015-2009-PRODUCE “Reglamento de Ordenamiento Pesquero de la Amazonía Peruana”.

### **3.6. Técnicas de Investigación**

#### **3.6.1. Preparación de ensayos**

Esta etapa se inició con la búsqueda y establecimiento de un lugar para la realización de los ensayos, seguida por el acondicionamiento y equipamiento de un espacio en el lugar para los ensayos, ubicación de un proveedor de los peces y finalmente seguimiento de la aclimatación de los peces.

##### Instalaciones

Para contar con una locación de los ensayos, bajo la supervisión permanente del Dr. José Iannacone, se presentó un oficio al Decano de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), solicitando el uso temporal de las instalaciones y los equipos disponibles del Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA) – UNFV.

##### Pecera y equipamiento

Para aclimatar y almacenar a los peces antes de los ensayos, se fabricó una pecera de vidrio (8 mm de grosor) de 90 cm de largo x 45 cm de fondo x 40 cm de alto, con capacidad de 162 L. Para la fabricación se usó la silicona Dow Corning 999A, recomendada por los acuaristas para este tipo de trabajos, ya que no contiene fungicidas, cuyo elemento es altamente tóxico para la biota acuática.

La pecera fue colocada sobre una plancha de tecnopor de 8 mm de grosor. El

tecnopor se usa para evitar que el vidrio de la base de la pecera, a causa del peso

del agua, sufra daños al estar en contacto con una superficie dura, como por ejemplo concreto. Además, ayuda a mantener la temperatura del agua.

Dentro de la pecera se instaló un termómetro para tener mediciones instantáneas de la temperatura y un filtro para mantener el agua en óptimas condiciones.

El filtro de agua fue marca Boyu, tipo mochila que va anclado sobre una pared lateral de la pecera, de 27 cm de largo x 36 cm de alto y 17 cm de ancho, con capacidad de recirculación de 720 L de agua por hora. Este modelo, dentro de su cavidad interna, contiene cuatro filtros con carbón activado, que incrementa la eficacia en la eliminación de impurezas del agua.

El termómetro estuvo ubicado al extremo opuesto del filtro, para tener una lectura apropiado de la temperatura del agua en la pecera.

En la Figura 1B del Anexo B se muestra la pecera empleada para la aclimatación de los peces.

#### Acondicionamiento de pecera

La pecera fue llenada al 90% de su capacidad (145 L), con agua de mesa Cielo, la cual presentó las siguientes características: potencial de hidrógeno de 7.59, agua neutra; conductividad eléctrica de  $615 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ; y dureza de  $249 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{CaCO}_3$ , que según la clasificación sugerida por Siegert (1998) sería un agua dura. Se dejó funcionar el sistema de la pecera, pero sin contener peces por cinco semanas. Esto con la finalidad de que las bacterias nitrificantes colonicen el medio acuático, sobre todo las esponjas del filtro, proceso denominado “ciclado”. Estas bacterias son las que consumen y transforman los compuestos nitrogenados tóxicos generados por

la descomposición del exceso de comida de los peces, así como de sus desechos, en compuestos no tóxicos (Hagen 2017).

Para realizar un seguimiento de las condiciones químicas del agua se midieron los parámetros fisicoquímicos y compuestos nitrogenados. Esto al iniciar, durante (semanalmente) y al finalizar el proceso de ciclado de cinco semanas.

Con el uso de un equipo portátil marca Hanna (HI98129), se registró la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) y potencial de hidrógeno (pH). La dureza fue medida con un kit Hanna (HI3812). Se usaron kits de la marca JBL® para medir las concentraciones de los compuestos nitrogenados, tales como: amonio ( $\text{NH}_4$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3$ ), y así tener certeza que las condiciones eran apropiadas para los peces.

En las Figuras 2B, 3B y 4B del Anexo B se muestran fotografías del kit de dureza, medidor portátil Hanna y de los kits JBL empleados, respectivamente.

#### Proveedor y condiciones de neón tetra

En el medio local no se comercializan individuos de esta especie en estadio alevín ya que no la reproducen en cautiverio, solo se comercializan neones tetra en estadio juvenil, con una longitud total de alrededor de 2 cm. Los juveniles de neón tetra fueron adquiridos en Acuario Amazónica del distrito de San Miguel, que es provisto por Aquarium Panduro.

Según nos informó el acuarista, estos peces son capturados de su medio natural y almacenados en peceras con agua de sus quebradas en la ciudad de Iquitos por al menos dos semanas, para luego ser transportados vía aérea a la ciudad de Lima,

En Lima, los neones pasan por un periodo de aislamiento de al menos otras dos semanas, para evitar la propagación de alguna enfermedad contraída en su medio natural. En este tiempo, los peces son almacenados en peceras cicladas, con filtros cascada y calentadores (22-25° C).

Además, durante este periodo, con una frecuencia de tres días, se realizan cambios parciales del 30% del volumen de las peceras empleando agua de osmosis inversa (baja en sales/iones), para que los peces se aclimaten de manera gradual a condiciones distintas a las de su medio natural.

#### Seguimiento de condiciones de los neones tetra

Luego de adquirirse los neones tetra en Acuario Amazónica, fueron transportados en grupos de 300 individuos dentro de bolsas plásticas gruesas de 10 L de capacidad, con agua de osmosis inversa oxigenada, hasta el LEBA-UNFV en el distrito de El Agustino. El tiempo de transporte no fue mayor a una hora en cada evento.

En el LEBA-UNFV, a las bolsas plásticas con peces, se les agregó 500 mL del agua de la pecera ciclada de manera gradual cada 15 min durante dos horas, con el objetivo de preparar a los peces a las condiciones de la pecera del laboratorio.

Los peces se mantuvieron en el laboratorio por un periodo mínimo de una semana antes de ser usados en los ensayos, a una temperatura promedio del agua de 22° C, expuestos a un fotoperiodo de 12h de luz y 12h de oscuridad, y alimentados cada día con Nutrafin Max ®.

### 3.6.2. Ensayos preliminares

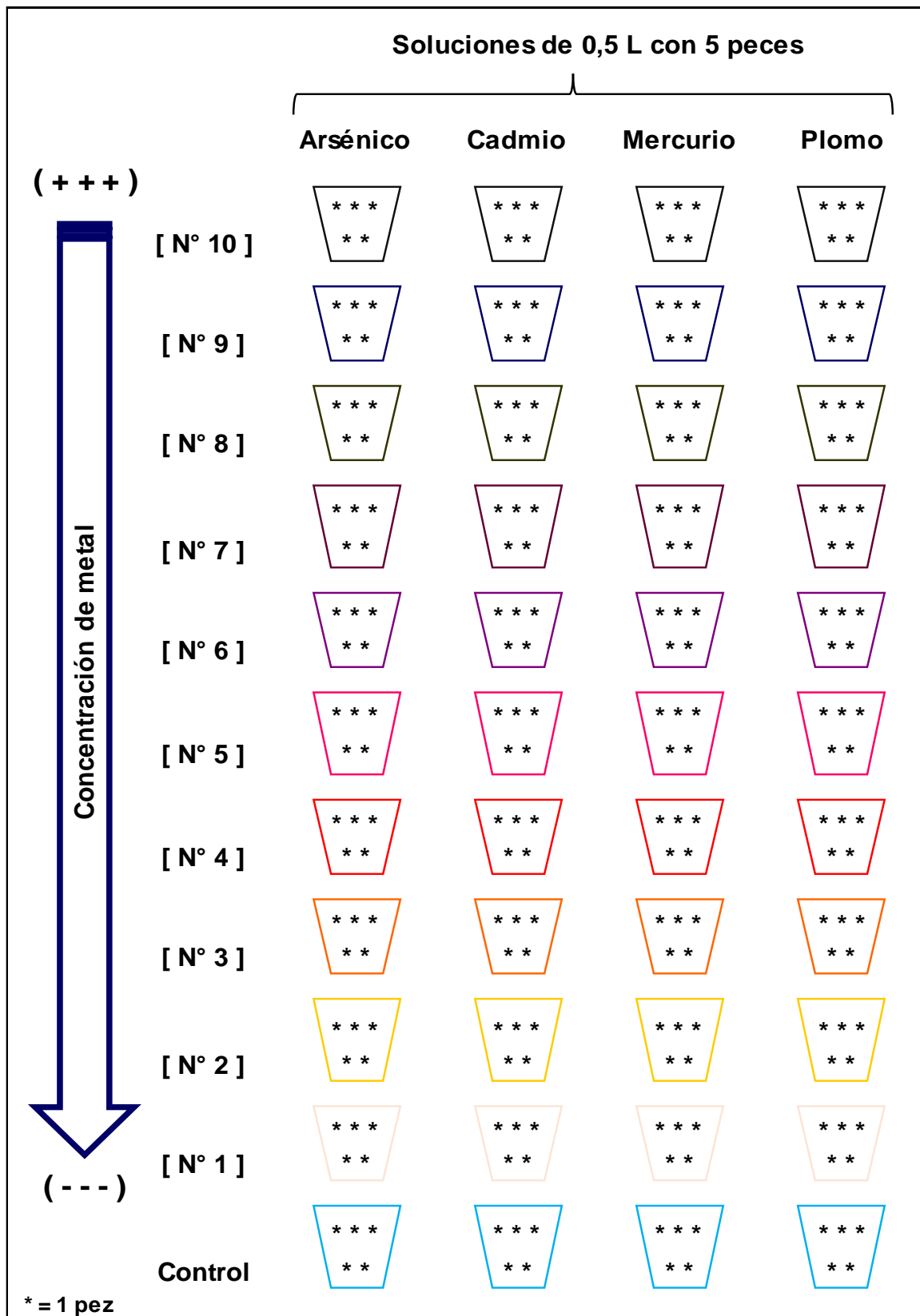
Se llevaron a cabo ensayos exploratorios para evaluar la sensibilidad de individuos juveniles de neón tetra a los metales de interés: arsénico, cadmio, mercurio y plomo; ya que no se cuenta con estudios previos donde se haya expuesto esta especie a metales.

#### Diseño exploratorio

Para cada metal, se elaboraron 10 soluciones de concentraciones distintas, que fueron disminuyendo de manera gradual. Se estableció un factor de dilución de 0,5 entre las concentraciones para todos los metales. Con fines de verificar la calidad del ensayo, se adicionó una solución control para cada metal, la cual no contenía metales. No se consideraron repeticiones. En un volumen de 500 mL de cada solución se introdujeron de manera aleatoria un total de cinco peces, para evaluar la mortalidad. En la Figura 3-2 se muestra esquemáticamente el planteamiento del diseño de los ensayos exploratorios.

#### Concentraciones de soluciones

Las concentraciones empleadas para cada metal se encuentran en la Tabla 3-1. Para el caso del mercurio se realizaron dos ensayos exploratorios, debido a que en el primero la mortalidad fue total en las distintas concentraciones, a excepción del control.



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-2: Diseño de ensayos exploratorios de la investigación "Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra"**

Tesis publicada con autorización del autor  
No olvide citar esta tesis

**Tabla 3-1: Concentraciones de los ensayos exploratorios para determinar las concentraciones en los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

N° de concentración	Factor de dilución	Metal (mg·L <sup>-1</sup> )				
		Arsénico	Cadmio	Mercurio (1)	Mercurio (2)	Plomo
10	0,5	500	1000	500	2000.000	2000
9	0,5	250	500	250	1000.000	1000
8	0,5	125	250	125	0,500	500
7	0,5	62,5	125	62,5	0,250	250
6	0,5	31,35	62,5	31,25	0,125	125
5	0,5	15,63	31,25	15,63	0,063	62,5
4	0,5	7,83	15,63	7,81	0,031	31,35
3	0,5	3,91	7,81	3,91	0,016	15,63
2	0,5	1,95	3,91	1,95	0,008	7,83
1	-	0,98	1,95	0,98	0,004	3,91
Control	-	0	0	0	0	0

Fuente: Elaboración propia

### Características de metales empleados

Los cuatro metales de interés fueron evaluados a través de sales comerciales. De esta manera, se usó el arseniato de sodio para evaluar el arsénico, el cloruro de cadmio para el cadmio, el cloruro de mercurio para el mercurio y el nitrato de plomo para el plomo.

Estas sales fueron adquiridas en Química Reyes S.A., ubicada en el distrito de Surquillo. En la Tabla 3-2 se presentan las características de las sales empleadas en el estudio.

**Tabla 3-2: Características de las sales empleadas en los ensayos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

Metal	Compuesto	Marca	Pureza (%)	Fórmula	Peso molecular
Arsénico	Arseniato de sodio	MallinckrodtE	98,0	Na <sub>2</sub> HAsO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	312,01
Cadmio	Cloruro de cadmio	MallinckrodtE	80,0	CdCl <sub>2</sub> - 2 <sub>1/2</sub> H <sub>2</sub> O	228,36
Mercurio	Cloruro de mercurio	Merck	99,5	HgCl <sub>2</sub>	271,50
Plomo	Nitrato de plomo	Erba	99,5	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	331,20

La representatividad de un metal dentro de una sal, varía de acuerdo a la composición de la sal y por ende del peso molecular de ambas. Considerando esto, la determinación del peso requerido de cada metal proveniente de las sales adquiridas se realizó a través de una regla de tres simple.

Así, por ejemplo, como se muestra en la Figura 3-3, para obtener 500 mg de arsénico proveniente del arseniato de sodio, se tendría que pesar 2 028,3 mg de esta sal.

	Peso molecular	Peso requerido (mg)
Arseniato de sodio	312,01	$X = 2\ 028,3$
Arsénico	74,92	500

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-3: Relación del peso del metal y compuesto**

### Características del agua para soluciones

El agua a emplearse en los ensayos debe presentar las mismas características del agua en la cual fueron aclimatados previamente en el laboratorio, para evitar que un cambio de condiciones externas influya en los resultados. Por tal razón, se empleó agua embotellada Cielo para diluir las sales con metales y elaborar las soluciones de ensayo.

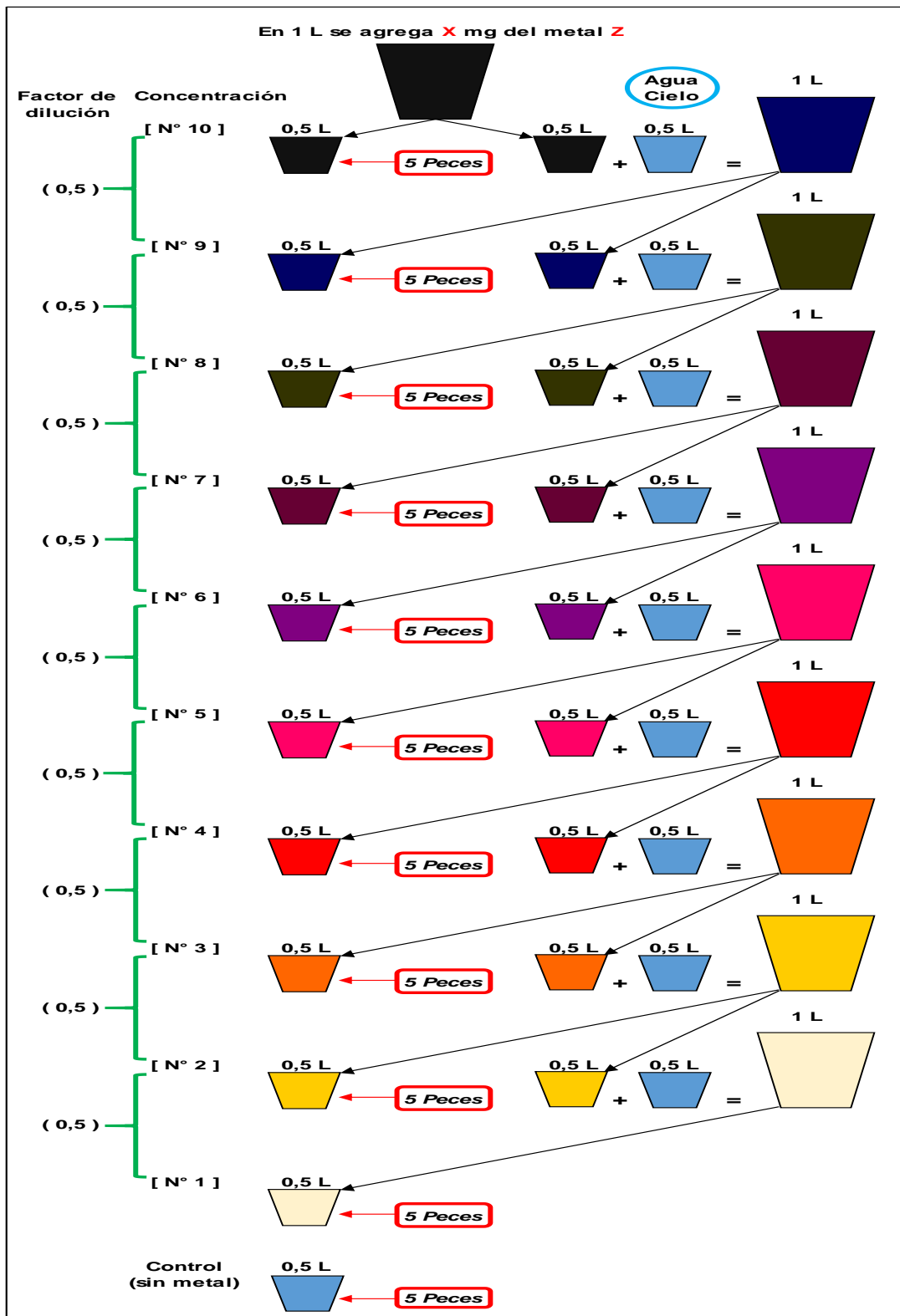
### Elaboración de soluciones

Las sales fueron pesadas empleando una balanza analítica marca AND modelo GR-2000, con 0.0001 g de precisión (Figura 5B del Anexo B). Luego fueron disueltas en 1 L de agua dentro de frascos plásticos de color blanco con el uso de varillas de vidrio. El agua fue almacenada en baldes plásticos y oxigenada con el uso de aireadores desde la noche anterior a los ensayos, para que la concentración de oxígeno disuelto fuera apropiado.

La solución inicial de 1 L, era dividida en dos partes de 500 mL, cada una dispuesta en frascos de 1 L. Uno de los frascos representaba la concentración N° 10 (la más alta) y se le adicionaba cinco peces. Al otro frasco se le adicionó 500 mL de agua, se combinó con una varilla de vidrio y se generó una nueva solución de 1L, a la mitad de la concentración de la solución previa. Esta nueva solución fue dividida en dos partes iguales de 500 mL, ambas ubicadas en frascos de 1 L; donde uno de los frascos representó la siguiente concentración la N° 9 adicionándosele cinco peces, al otro frasco se le agregó 500 mL de agua, de tal manera que se formuló una nueva solución de 1L, a la mitad de la concentración de solución anterior. Este proceso fue repetido hasta generar la solución de concentración N° 1 (la más baja).

En la Figura 3-4 se presenta de manera esquemática el proceso de elaboración de las soluciones a distintas concentraciones.





Fuente: Elaboración propia

Figura 3-4: Proceso de elaboración de soluciones para ensayos exploratorios de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”

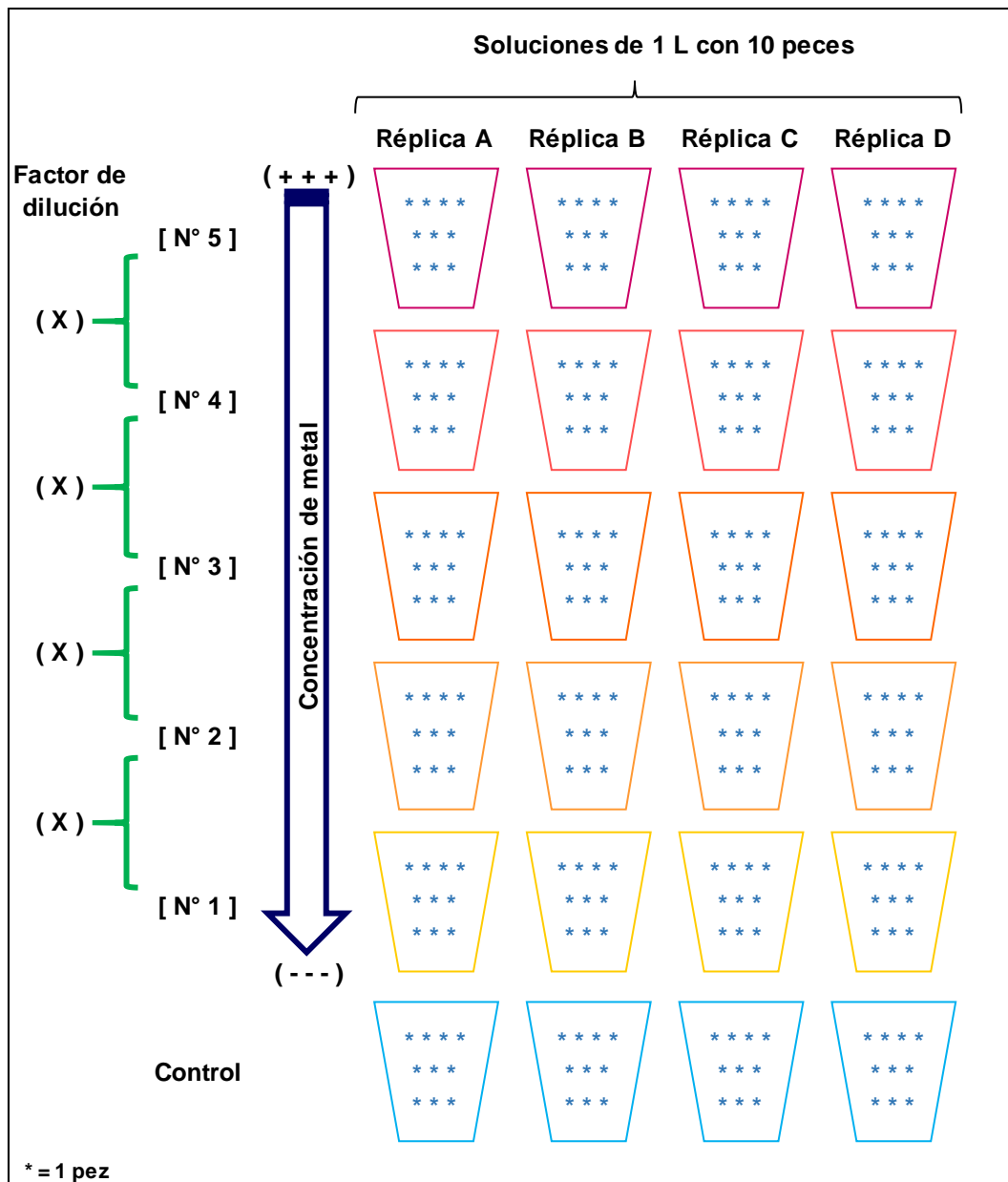
### Evaluaciones de ensayos exploratorios

Los ensayos exploratorios tuvieron una duración de 96 h, donde se evaluó únicamente el efecto letal (mortalidad) de los metales cada 24 h. La evaluación se realizó de manera visual y con la ayuda de un estilete los peces fueron tocados ligeramente por 10 seg, si el individuo no mostraba ningún tipo de reacción; como movimiento de las aletas, opérculo o boca; era considerado como muerto y retirado de los envases, para evitar que su descomposición interfiera con el efecto real de los metales. Las muertes fueron registradas en fichas diseñadas específicamente para este tipo de estudios.

### **3.6.3. Ensayos definitivos**

#### Diseño de ensayos

Para los ensayos definitivos se consideraron cinco concentraciones diferentes, las cuales disminuyeron progresivamente. Por metal se aplicó un factor de dilución para todas las concentraciones. El factor para cada metal varió de acuerdo a los datos obtenidos en los ensayos exploratorios. Se incluyó una solución control por metal, de manera similar a los ensayos exploratorios. Se consideraron cuatro repeticiones por concentración y metal. La solución de cada concentración fue de 1 L, donde se colocaron aleatoriamente 10 peces por solución. En la Figura 3-5 se muestra esquemáticamente el planteamiento del diseño de los ensayos definitivos y en la Figura 6B del Anexo B se muestra una vista de un ensayo definitivo realizado.



Fuente: Elaboración propia

**Figura 3-5: Diseño de ensayos definitivos por metal de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

Concentraciones de soluciones

En base a los datos obtenidos de mortalidad de las concentraciones evaluadas en los ensayos exploratorios se definieron rangos de concentraciones para cada metal, a evaluarse en los ensayos definitivos.

Se consideró como extremo superior del rango a la concentración más baja con mortalidad total (n=5) y como extremo inferior a la segunda concentración más alta con mortalidad nula (n=0).

La segunda concentración más alta fue tomada en cuenta en lugar de la primera más alta, para asegurarnos de obtener mortalidades nulas en los ensayos definitivos (lo cual contribuye a la confiabilidad de los parámetros a estimarse), ya que se obtuvieron mortalidades parciales en un número reducido de concentraciones, de cero a tres concentraciones por metal. Esto aplicó para arsénico, mercurio y plomo.

Para el cadmio, no se consideró necesario establecer a la primera concentración más baja como extremo inferior, debido a que cinco concentraciones presentaron una mortalidad parcial baja al finalizar los ensayos exploratorios, generalmente del 20% (n=1).

Las concentraciones establecidas para cada metal, así como los respectivos factores de dilución se presentan en la Tabla 3-3.

**Tabla 3-3: Concentraciones establecidas para los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

N° de concentración	Metal (mg·L <sup>-1</sup> )							
	Arsénico	F.D.	Cadmio	F.D.	Mercurio	F.D.	Plomo	F.D.
5	125	0,6	125	0,35	0,500	0,4	500	0,7
4	75	0,6	43,8	0,35	0,200	0,4	350	0,7
3	45	0,6	15,3	0,35	0,080	0,4	245	0,7
2	27	0,6	5,4	0,35	0,032	0,4	172	0,7
1	16.2	-	1,9	-	0,013	-	120	-
Control	-	-	-	-	-	-	-	-

F.D. = factor de dilución

Fuente: Elaboración propia

Al finalizar los ensayos, se esperaba que, de las cinco concentraciones contempladas por metal, una afectara la totalidad de los peces, tres tuvieran afecciones parciales y otra no afectara ningún pez expuesto.

Sin embargo, esto se cumplió solo para el cadmio, por lo que, se evaluaron soluciones de concentraciones complementarias para los otros tres metales, con valores entre las establecidas inicialmente. En la Tabla 3-4 se muestran todas las concentraciones empleadas por metal, resaltado en rojo las concentraciones complementarias.

**Tabla 3-4: Concentraciones empleadas en los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

Metal (mg.L <sup>-1</sup> )							
N° de con.	Arsénico	N° de con.	Cadmio	N° de con.	Mercurio	N° de con.	Plomo
6	125	5	125	6	0,500	7	500
5*	100*	4	43,8	5	0,200	6	350
4	75	3	15,3	4*	0,160*	5*	315*
3	45	2	5,4	3	0,080	4*	280*
2	27	1	1,9	2	0,032	3	245
1	16,2	-	-	1	0,013	2	172
-	-	-	-	-	-	1	120
Control	-	Control	-	Control	-	Control	-

F.D. = factor de dilución; con. = concentración; \* = concentraciones complementarias.

Fuente: Elaboración propia

### Elaboración de soluciones

Las soluciones para los ensayos finales fueron elaboradas de manera similar a la descrita en la sección de ensayos exploratorios, teniendo en cuenta las mismas consideraciones.

### Evaluaciones de ensayos

La duración de los ensayos fue de 96 h. Con la ayuda de un estilete y con una frecuencia de 24 h, se evaluaron tres efectos: uno letal y dos subletales. Se

Tesis publicada con autorización del autor

No olvide citar esta tesis considero efecto letal (muerte) si al tocar el pez por 10 seg no se observaba

**UNFV**

movimiento alguno. Los efectos subletales fueron: i) nado extraño, si el pez realizaba movimientos anómalos como desplazarse lentamente solo en la superficie o de manera diagonal; y ii) movimiento opercular, si el pez presentaba movimiento escaso del cuerpo y con una marca aceleración al respirar.

Los individuos muertos fueron retirados al finalizar la lectura diaria para que su descomposición no genere efectos adversos sobre el resto.

Adicionalmente a las lecturas de los efectos de los metales, se tomó nota de la conductividad y potencial de hidrógeno al iniciar y finalizar los ensayos, y se midieron y pesaron los peces.

Se emplearon fichas diseñadas específicamente para estos ensayos, para registrar las lecturas de los efectos, parámetros fisicoquímicos y datos biométricos de los peces.

### **3.7. Instrumentos de Recolección de Datos**

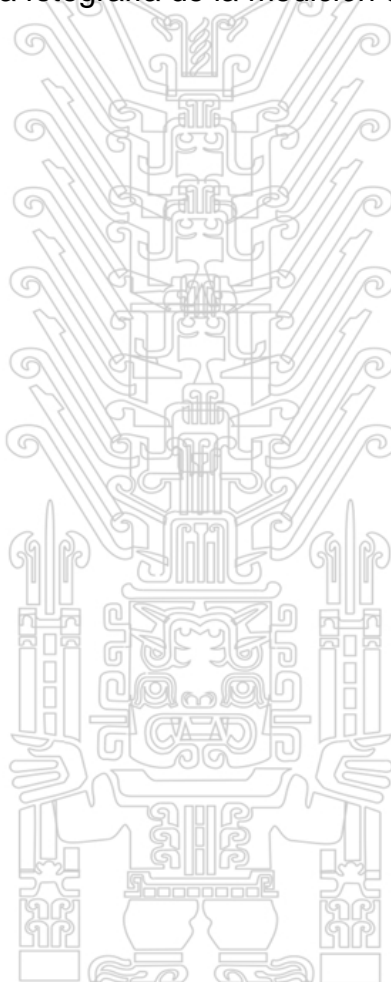
En la tarea de registro de información se emplearon fichas diseñadas específicamente para las distintas etapas del estudio.

Para la etapa de preparación de ensayos, específicamente durante la aclimatación de los peces, se usó la ficha de la Figura 1C del Anexo C, para anotar los parámetros fisicoquímicos del agua de la pecera y número de individuos muertos por día.

En la etapa de ensayos preliminares se empleó una ficha para apuntar el número de individuos muertos por periodo de evaluación y concentración, la cual se

presenta en la Figura 2C del Anexo C.

Durante la etapa de ensayos definitivos se utilizaron tres fichas. Una para registrar la cantidad de peces que fueron afectados de manera letal y subletal por cada concentración empleada de manera diaria, otra para los parámetros fisicoquímicos al iniciar y finalizar los ensayos, y una para tomar nota de los parámetros biométricos de los peces culminando las pruebas. Estas fichas se encuentran en la Figura 3C, Figura 4C y Figura 5C del Anexo C, respectivamente. En la Figura 7B del Anexo B se muestra una fotografía de la medición de un pez neón tetra.



### 3.8. Procesamiento y Análisis de Datos

La información registrada en las fichas durante el estudio fue digitalizada empleando el programa Excel y se generaron matrices con la finalidad de facilitar su procesamiento. A partir de la información procesada se aplicaron los siguientes métodos y técnicas de análisis.

#### 3.8.1. Métodos para evaluar la relación dosis-respuesta

##### Concentración letal y efectiva media (CL/CE<sub>50</sub>)

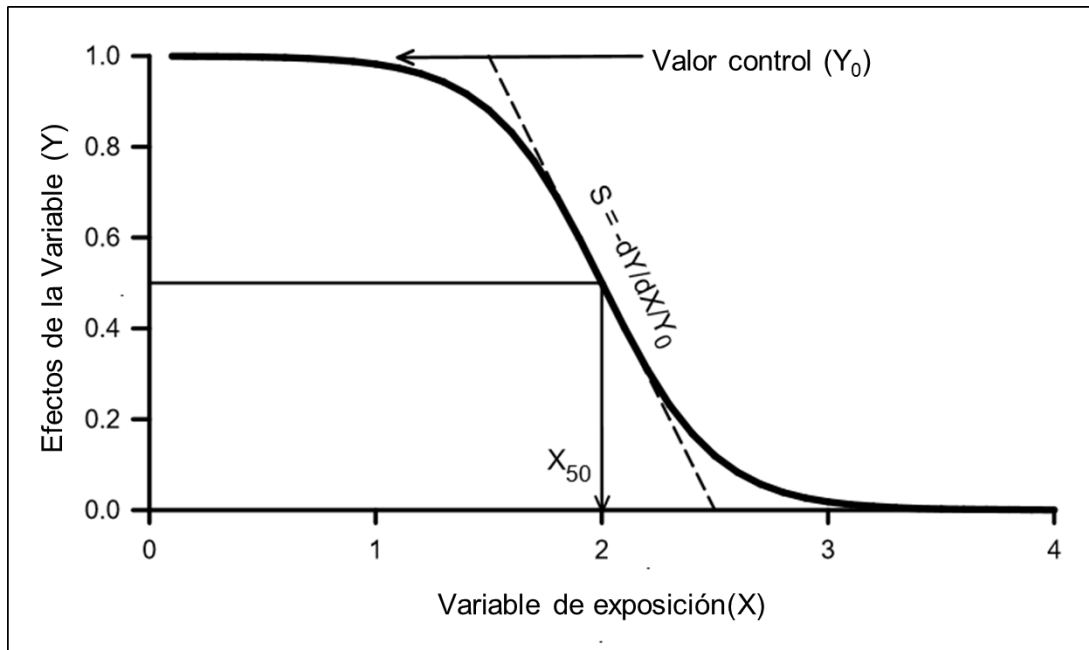
La CL/CE<sub>50</sub> fue calculada mediante el uso del programa TRAP versión 1.30a (2015) y a través de la función Probit contenida en una plantilla del programa Excel (2016) provista por Raj Alpha (2017) para uso libre y disponible en la web.

- TRAP es un programa de uso libre generado por la United State Environmental Protection Agency (US EPA). Analiza la declinación de una variable biológica (por ejemplo, sobrevivencia) desde un valor control a cero a medida que se incrementa la exposición química (por ejemplo, concentración).

En la Figura 3-6 se muestra de manera esquemática la gráfica que se obtiene con TRAP, donde  $X_{50}$  representa el valor de la variable de exposición que origina el 50% de reducción en los efectos de la variable desde su valor control.

El valor  $X_{50}$ , dependiendo de la finalidad del estudio y del parámetro de lectura, puede ser la CL<sub>50</sub>, CE<sub>50</sub> o CI<sub>50</sub> (concentración de inhibición media).

Este programa brinda como resultados, adicionalmente a la  $CX_{50}$ , los límites de confianza superior ( $CX_{50 \text{ sup}}$ ) e inferior ( $CX_{50 \text{ inf}}$ ) al 95%, entre otros estimadores.



Fuente: US EPA 2015

**Figura 3-6: Relación dosis-respuesta (TRAP)**

- Con el programa Excel se usó la platilla de uso libre generada por Raj Alpha (2017) disponible en la web, la cual contiene las fórmulas requeridas para el cálculo de la  $CL_{50}$ ,  $CE_{50}$  o  $CI_{50}$  y de sus respectivos límites de confianza ( $CX_{50 \text{ inf}}$  y  $CX_{50 \text{ sup}}$ ) al 95%, junto a otros estimadores, mediante el uso de la función Probit.

### 3.8.2. Métodos para evaluar la diferencia entre las respuestas a distintas concentraciones

#### Concentración de efecto no observado (NOEC) y concentración mínima de efecto observado (LOEC)

La NOEC y LOEC fueron determinadas a través del análisis de varianza (ANDEVA), seguido de la prueba de Tukey, con el empleo del programa de uso Info Stat versión 2008.

Inicialmente se aplica el ANDEVA de una vía, ya que solo se evalúa la variable concentración, para verificar si existen diferencias significativas entre las mortalidades medias de las distintas empleadas, incluyendo la muestra control.

Si los resultados confirman lo planteado, se prosigue con la prueba de Tukey para identificar las concentraciones con mortalidades medias que no fueron significativamente distintas a las de la muestra control. Finalmente, en base a esos resultados, se identifican el NOEC y LOEC.

En la Figura 3-7 se presenta de forma esquemática la selección de NOEC y LOEC, con los resultados de la prueba de Tukey.

	Concentraciones (mg.L <sup>-1</sup> )	N° muestras	Mortalidad media	
	0.0	4	0.00	a
	1.25	4	0.00	a
	2.50	4	0.00	a
<b>NOEC</b>	5.0	4	0.50	a
<b>LOEC</b>	10.0	4	3.75	b
	20.0	4	7.00	c
	40	4	9.75	d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Fuente: Elaboración propia

### 3.8.3. Concentración sin efecto pronosticada (PNEC)

Se evaluó el riesgo ambiental de los metales sobre la biota del medio acuático continental, usando a la especie *P. innesi*, a través de la estimación del PNEC para cada uno de ellos, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{PNEC} = \frac{\text{CL}_{50-96\text{h}}}{\text{Factor de seguridad}}$$

Se consideró un factor de seguridad de 1000, como lo recomienda la OECD (2011) cuando se cuenta con información de un solo nivel trófico del medio acuático.

Los PNEC obtenidos para el efecto letal a las 96 h, fueron comparados con los valores de arsénico, cadmio, mercurio y plomo de la Categoría 4: Conservación del Ambiente Acuático, E2: Ríos de Selva, de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Agua, aprobados mediante el Decreto Supremo (D.S.) N° 004-2017-MINAM, el 7 de junio del 2017 (Tabla 3-5).

**Tabla 3-5: Estándares de Calidad Ambiental 2017 de la Categoría 4 / E2: Ríos de Selva**

Metal	mg·L <sup>-1</sup>
Arsénico (As)	0,15
Cadmio (Cd)*	0,00025
Mercurio (Hg)	0,0001
Plomo (Pb)	0,0025

\* = disuelto

Fuente: D.S. N° 004-2017-MINAM

### 3.8.4. Biometría de Peces

Se evaluó la diferencia de las longitudes totales (mm) y pesos húmedos (mg) promedio, de los individuos empleados entre las concentraciones evaluadas para

cada metal, a través del ANDEVA con el uso del programa Info Stat. También se  
No olvide citar esta tesis

analizó la diferencia de los promedios de ambos parámetros biométricos, entre los distintos metales. Esto con la finalidad de identificar alguna posible influencia de la variación de las longitudes y pesos sobre los resultados obtenidos.

### **3.8.5. Parámetros Físicoquímicos**

Los valores de pH y conductividad registrados al inicio (0 h) y al final de los ensayos (96 h), para cada concentración de los distintos metales fueron representados gráficamente.

Además, se evaluó la relación entre los valores de cada uno de los dos parámetros con las concentraciones de cada metal, mediante la determinación del coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ).

Este coeficiente varía de -1 a +1, el primer caso se da cuando los valores de ambas variables disminuyen y el segundo caso cuando los valores se incrementan. Se obtiene un coeficiente de 0 en el caso que no existiera ninguna correlación entre las variables evaluadas.

Luego se evaluó la significancia (al 0,05) del coeficiente obtenido mediante una prueba de t-student. Ambos análisis, coeficiente de Pearson y la prueba de t-student, fueron realizados con el uso del programa Info Stat.

### **3.8.6. Prueba de hipótesis**

Para contrastar las hipótesis planteadas se empleó el ANDEVA, de tal manera que se compararan los resultados obtenidos a distintas concentraciones y tiempos de exposición de los metales (para el efecto letal y los efectos subletales) contra la solución control (sin metal).

## 4. CAPÍTULO IV:

### RESULTADOS

La información registrada durante el desarrollo del estudio es descrita a continuación en dos secciones: análisis e interpretación y contrastación de hipótesis.

#### 4.1. Análisis e Interpretación

Esta sección está conformada por los resultados obtenidos durante los dos tipos de ensayos realizados, preliminares y definitivos.

##### 4.1.1. Ensayos preliminares

Los resultados de los ensayos preliminares son descritos por metal a continuación.

##### Arsénico

El arsénico, al final del ensayo (96 h), presentó una mortalidad total en las tres concentraciones más altas (125, 250 y 500 mg·L<sup>-1</sup>). Solo se obtuvo una mortalidad parcial, en una concentración intermedia (62,5 mg·L<sup>-1</sup>). Las seis concentraciones más bajas (de 0,98 a 31,25 mg·L<sup>-1</sup>) y el control no mostraron ninguna mortalidad.

En la Tabla 4-1 se muestran los resultados de mortalidad obtenidos con arsénico por concentración y día de evaluación. Dentro de un casillero se encuentra el rango de concentraciones seleccionadas, para el ensayo definitivo.

**Tabla 4-1: Mortalidad de *P. innesi* por el arsénico en ensayos preliminares**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Factor de dilución	N° de peces para prueba	Evaluación (h) de mortalidad (%)				N° de peces sobrevivientes
				24	48	72	96	
Control	0	-	5	-	-	-	-	5
1	0,98	0,5	5	-	-	-	-	5
2	1,95	0,5	5	-	-	-	-	5
3	3,91	0,5	5	-	-	-	-	5
4	7,81	0,5	5	-	-	-	-	5
5	15,63	0,5	5	-	-	-	-	5
6	31,25	0,5	5	-	-	-	-	5
7	62,5	0,5	5	-	20	40	60	2
8	125	0,5	5	60	100	100	100	0
9	250	0,5	5	100	100	100	100	0
10	500	0,5	5	100	100	100	100	0

■ = mortalidad total; ■ = mortalidad parcial; ■ = mortalidad nula; □ = rango de concentraciones para ensayos definitivos.

Fuente: Elaboración propia

### Cadmio

Para el cadmio, a las 96 h de evaluación, las cuatro concentraciones más altas (de 125 a 1 000 mg·L<sup>-1</sup>) tuvieron una mortalidad total, las cinco concentraciones siguientes (de 3,91 a 62,5 mg·L<sup>-1</sup>) presentaron una mortalidad parcial, y la concentración más baja (1,95 mg·L<sup>-1</sup>), así como el control, registraron una mortalidad nula.

En la Tabla 4-2 se presentan los resultados de mortalidad obtenidos para cadmio por concentración y día de evaluación. En un casillero se encuentra el rango de concentraciones seleccionadas, para el ensayo definitivo.

**Tabla 4-2: Mortalidad de *P. innesi* por el cadmio en ensayos preliminares**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Factor de dilución	N° de peces para prueba	Evaluación (h) de mortalidad (%)				N° de peces sobrevivientes
				24	48	72	96	
Control	0	-	5	-	-	-	-	5
1	1,95	0,5	5	-	-	-	-	5
2	3,91	0,5	5	-	-	-	20	4
3	7,81	0,5	5	-	-	-	20	4
4	15,63	0,5	5	-	-	20	20	4
5	31,25	0,5	5	-	20	20	20	4
6	62,5	0,5	5	-	60	60	80	1
7	125	0,5	5	100	100	100	100	0
8	250	0,5	5	100	100	100	100	0
9	500	0,5	5	100	100	100	100	0
10	1000	0,5	5	100	100	100	100	0

■ = mortalidad total; ■ = mortalidad parcial; ■ = mortalidad nula; □ = rango de concentraciones para ensayos definitivos.

Fuente: Elaboración propia

### Mercurio

En el caso del mercurio, a las 24 h del ensayo se registró una mortalidad total en las 10 concentraciones evaluadas (de 500 a 0,98 mg·L<sup>-1</sup>), a excepción del control donde no hubieron peces muertos hasta las 96 h.

En la Tabla 4-3 se presentan los resultados de mortalidad obtenidos para mercurio por concentración y día de evaluación.

**Tabla 4-3: Mortalidad de *P. innesi* por el mercurio en ensayos preliminares (1)**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Factor de dilución	N° de peces para prueba	Evaluación (h) de mortalidad (%)				N° de peces sobrevivientes
				24	48	72	96	
Control	0	-	5	-	-	-	-	5
1	0,98	0,5	5	100	100	100	100	0
2	1,95	0,5	5	100	100	100	100	0
3	3,91	0,5	5	100	100	100	100	0
4	7,81	0,5	5	100	100	100	100	0
5	15,63	0,5	5	100	100	100	100	0
6	31,3	0,5	5	100	100	100	100	0
7	63	0,5	5	100	100	100	100	0
8	125	0,5	5	100	100	100	100	0
9	250	0,5	5	100	100	100	100	0
10	500	0,5	5	100	100	100	100	0

■ = mortalidad total; ■ = mortalidad nula.

Fuente: Elaboración propia

Debido a que se obtuvo una mortalidad total en el ensayo exploratorio con el mercurio, no se pudo establecer el rango de concentraciones para el ensayo

definitivo. Así que se realizó un segundo ensayo exploratorio, siendo la mayoría de  
 Tesis publicada con autorización del autor  
 No olviden concentraciones más bajas que el primero.

En el siguiente ensayo a las 96 h, se obtuvo una mortalidad total en las tres concentraciones más altas (de 2 a 0,5 mg·L<sup>-1</sup>) y una mortalidad parcial en las siguientes tres (de 0,25 a 0,063 mg·L<sup>-1</sup>). En las cuatro concentraciones más bajas (de 0,031 a 0,004 mg·L<sup>-1</sup>) y el control la mortalidad fue nula.

En la Tabla 4-4 se muestran los resultados de mortalidad obtenidos con mercurio en el segundo ensayo exploratorio, por concentración y día de evaluación. Dentro de un casillero se encuentra el rango de concentraciones seleccionadas, para el ensayo definitivo.

**Tabla 4-4: Mortalidad de *P. innesi* por el mercurio en ensayos preliminares (2)**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Factor de dilución	N° de peces para prueba	Evaluación (h) de mortalidad (%)				N° de peces sobrevivientes
				24	48	72	96	
Control	0	-	5	-	-	-	-	5
1	0,004	0,5	5	-	-	-	-	5
2	0,008	0,5	5	-	-	-	-	5
3	0,016	0,5	5	-	-	-	-	5
4	0,031	0,5	5	-	-	-	-	5
5	0,063	0,5	5	-	-	20	20	4
6	0,125	0,5	5	-	-	-	20	4
7	0,250	0,5	5	60	60	80	80	1
8	0,500	0,5	5	40	100	100	100	0
9	1,000	0,5	5	100	100	100	100	0
10	2,000	0,5	5	100	100	100	100	0

■ = mortalidad total; ■ = mortalidad parcial; ■ = mortalidad nula; □ = rango de concentraciones para ensayos definitivos.

Fuente: Elaboración propia

### Plomo

El plomo al final ensayo, mostró en las tres concentraciones más altas (de 2000 a 500 mg·L<sup>-1</sup>) una mortalidad total. En las siete concentraciones restantes (de 250 a 3,91 mg·L<sup>-1</sup>) y el control la mortalidad fue nula.

En la Tabla 4-5 se presentan los resultados de mortalidad obtenidos con plomo en por concentración y día de evaluación. Dentro de un casillero se encuentra el rango de concentraciones seleccionadas, para el ensayo definitivo.

**Tabla 4-5: Mortalidad de *P. innesi* por el plomo en ensayos preliminares**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Factor de dilución	N° de peces para prueba	Evaluación (h) de mortalidad (%)				N° de peces sobrevivientes
				24	48	72	96	
Control	0	-	5	-	-	-	-	5
1	3,91	0,5	5	-	-	-	-	5
2	7,81	0,5	5	-	-	-	-	5
3	15,63	0,5	5	-	-	-	-	5
4	31,25	0,5	5	-	-	-	-	5
5	62,50	0,5	5	-	-	-	-	5
6	125	0,5	5	-	-	-	-	5
7	250	0,5	5	-	-	-	-	5
8	500	0,5	5	60	100	100	100	0
9	1000	0,5	5	100	100	100	100	0
10	2000	0,5	5	100	100	100	100	0

■ = mortalidad total; ■ = mortalidad nula; □ = rango de concentraciones para ensayos definitivos.

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.2. Ensayos definitivos-Efectos

Los resultados de los ensayos definitivos fueron agrupados por metal, efecto y tiempo de evaluación y se presentan a continuación.

##### Arsénico

Las dos concentraciones más bajas (16,2 y 27 mg·L<sup>-1</sup>) no generaron ningún tipo de efecto en los peces. En el control tampoco se registraron peces afectados. Las otras cuatro concentraciones (de 45 a 125 mg·L<sup>-1</sup>) originaron un incremento progresivo a lo largo del tiempo en el registro de peces muertos, así como con nado extraño y movimiento opercular. Además, estas cuatro concentraciones presentaron una relación directa con el número de peces afectados, es decir, que a mayor concentración se evidenció un mayor número de peces afectados de manera letal (muerte) y subletal (nado extraño y movimiento opercular). Solo la concentración más alta (125 mg·L<sup>-1</sup>) provocó un afectación del total de peces expuestos, primero de manera subletal y luego de forma letal.

En la Tabla 4-6 se presenta el número de peces afectados por concentración y hora de evaluación. En la Tabla 4-7 se muestran los valores obtenidos para los distintos

**Tabla 4-6: Individuos (%) de *Paracheiroidon innesi* con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con arsénico**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	16,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	45	-	5	5	23	-	5	5	18	-	5	5	18
4	75	13	38	58	80	8	13	55	75	3	23	55	75
5	100	13	70	95	98	5	33	90	95	-	60	90	95
6	125	78	98	100	100	70	95	100	100	58	95	100	100

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 4-7: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en *Paracheiroidon innesi* en los ensayos definitivos con arsénico**

Método	Análisis	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Andeva	p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	F	65,8	127,2	206,1	140,6	40,8	89,2	171,1	124,8	25,3	109,4	171,1	124,8
Tukey	NOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	100	45	45	27	100	45	45	27	100	45	45	45
	LOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	125	75	75	45	125	75	75	75	125	75	75	75
Excel-Probit	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	112,0	78,0	68,6	56,9	121,2	81,4	71,2	60,3	119,5	84,2	71,2	60,3
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	97,1	67,2	59,4	48,1	104,5	69,6	61,4	51,0	104,9	72,1	61,4	51,0
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	129,2	90,6	79,2	67,3	140,6	95,1	82,5	71,3	136,1	98,3	82,5	71,3
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,112	0,078	0,069	0,057	0,121	0,081	0,071	0,060	0,120	0,084	0,071	0,060
TRAP	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	112,8	83,8	72,2*	62,5	199,2	87,0	74,2	65,5	123,2*	90,3	74,2	65,5
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	105,2	78,2	67,6*	57,8	115,0	81,1	69,2	60,7	ND	84,3	69,2	60,7
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	120,4	89,5	76,8*	67,1	123,5	93,0	79,1	70,2	ND	97,3	79,1	70,2
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,113	0,084	0,072	0,062	0,119	0,087	0,074	0,065	0,123	0,090	0,074	0,065

N.D. = no determinado; \* = valores calculados con cautela.

Fuente: Elaboración propia

Los valores de  $p$  obtenidos a través del ANDEVA para cada tiempo y efecto evaluado fue  $< 0,001$ , lo cual indica que los resultados obtenidos para al menos una de las concentraciones fueron distintos del resto dentro de cada momento de evaluación y efecto esperado (Tabla 4-7).

En base a los resultados generados mediante la prueba de Tukey se identificaron los valores de NOEC y LOEC, los cuales se redujeron de las 24 h a las 48 h de evaluación para los tres efectos, para luego seguir disminuyendo o mantenerse similares a través del tiempo. Para el nado extraño y movimiento opercular los valores de NOEC y LOEC fueron iguales entre las 48 h y 72 h, y luego descendieron a las 96 h. En el caso del efecto letal, ambos valores fueron los mismos desde las 48 h hasta las 96 h (Tabla 4-7).

Los valores de  $CL_{50}$  para el efecto letal y  $CE_{50}$  para los dos efectos subletales obtenidos con el TRAP y Excel-Probit mostraron una tendencia a disminuir con el tiempo. Las  $CL_{50}$  fueron mayores a las  $CE_{50}$  del movimiento opercular en la mayoría de tiempos de evaluación, y estos últimos a su vez estuvieron por encima de las  $CE_{50}$  del nado extraño generalmente. Las  $CL_{50}$  y  $CE_{50}$  generados por TRAP fueron ligeramente más altas que las del Excel-Probit (Tabla 4-7).

Ya que el PNEC es la división del CL o CE con un factor de seguridad, los valores obtenidos siempre muestran la misma distribución que estos, variando de 0,057 a 0,113  $mg \cdot L^{-1}$  para nado extraño, de 0,060 a 0,121  $mg \cdot L^{-1}$  para movimiento opercular y de 0,060 a 0,123  $mg \cdot L^{-1}$  para mortalidad, en todos los casos los registros más altos estuvieron a 24 h y los más bajos a 96 h, considerando lo obtenido con TRAP y Excel-Probit (Tabla 4-7).

El PNEC obtenido para mortalidad a las 96 h con TRAP ( $0,060 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y Excel-Probit ( $0,065 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) fue alrededor de 2,5 veces menor que el ECA Cat 4 / E2 para este arsénico ( $0,15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

### Cadmio

Los peces del control y de la concentración más baja ( $1,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) no mostraron ningún tipo de alteración. En las otras cuatro concentraciones (de 5 a  $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) la cantidad de peces afectados se incrementó con la concentración y con el transcurrir del tiempo, tanto para el efecto letal y los subletales. La concentración más alta ( $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) generó una afectación de todos los peces a las 24 h de exposición.

En la Tabla 4-8 se presenta el número de peces afectados por concentración y hora de evaluación. En la Tabla 4-9 se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros analizados.

Los resultados de  $p$  ( $< 0,001$ ) revelan que al menos una de las concentraciones difiere del resto dentro de cada tiempo de evaluación para cada efecto esperado (Tabla 4-9).

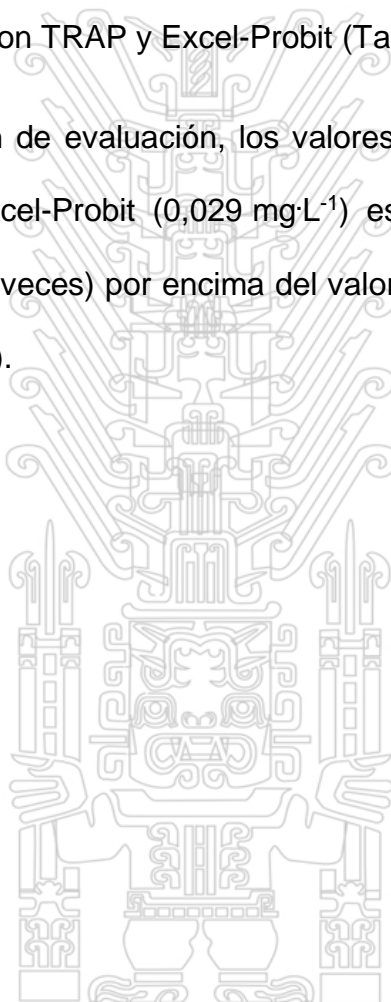
Los valores de NOEC y LOEC para el nado extraño se redujeron de las 24 h a las 48 h y se mantuvieron constantes hasta las 96 h; mientras que los de movimiento opercular y efecto letal fueron iguales, con valores similares entre las 24 h y 48 h, luego se redujeron a las 72 h y se mantuvieron hasta las 96 h (Tabla 4-9).

Las  $CE_{50}$  para nado extraño e incremento de movimiento opercular se redujeron de manera gradual de 24 h hasta 72 h y se mantuvieron iguales hasta las 96 h; mientras que para el efecto letal la reducción del  $CL_{50}$  fue progresiva hasta las 96 h.

Los valores obtenidos con TRAP fueron mayores a los del Excel-Probit en todos los casos, a excepción de los registros de 24 h donde la tendencia fue inversa, con los valores de Excel-Probit por encima de los de TRAP (Tabla 4-9).

Los resultados de PNEC fluctuaron entre 0,021 y 0,1 mg·L<sup>-1</sup> para nado extraño, entre 0,023 y 0,089 mg·L<sup>-1</sup> para incremento de movimiento opercular y mortalidad, en los tres casos con los registros más bajos a las 96 h y los más altos a las 24 h, considerando lo obtenido con TRAP y Excel-Probit (Tabla 4-9).

Para mortalidad a las 96 h de evaluación, los valores de PNEC calculados para TRAP (0,023 mg·L<sup>-1</sup>) y Excel-Probit (0,029 mg·L<sup>-1</sup>) estuvieron alrededor de dos órdenes de magnitud (100 veces) por encima del valor del el ECA Cat 4 / E2 para este metal (0,00025 mg·L<sup>-1</sup>).



**Tabla 4-8: Individuos (%) de *Paracheirodon innesi* con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con cadmio**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	5,4	5	8	8	8	3	8	8	8	3	5	8	8
3	15,3	3	13	15	15	3	8	13	13	3	8	13	13
4	43,8	40	73	88	88	38	70	85	85	38	70	83	85
5	125	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 4-9: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en *Paracheirodon innesi* en los ensayos definitivos con cadmio**

Método	Análisis	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Andeva	p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	F	307,4	314,86	609,8	609,8	185,1	243,7	601,0	601,0	185,1	236,2	651,8	601,0
Tukey	NOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	15,3	5,4	5,4	5,4	15,3	15,3	5,4	5,4	15,3	15,3	5,4	5,4
	LOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	43,8	15,3	15,3	15,3	43,8	43,8	15,3	15,3	43,8	43,8	15,3	15,3
Excel-Probit	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	99,7	29,7	21,4	21,4	89,4	33,9	23,1	23,1	89,4	33,8	24,3	23,1
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	48,7	18,2	14,0	14,0	47,6	20,5	14,9	14,9	47,6	21,0	15,5	14,9
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	204,2	48,4	32,8	32,8	167,9	56,1	35,7	35,7	167,9	54,3	37,9	35,7
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,100	0,030	0,021	0,021	0,089	0,034	0,023	0,023	0,089	0,034	0,024	0,023
TRAP	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	50,2	33,6	28,2*	28,2	51,5*	35,3	29,4	29,4	51,5*	35,5	30,2	29,4
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	38,2	27,7	23,7*	23,7	39,0*	29,3	24,7	24,7	39,0*	29,9	25,2	24,7
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	62,2	39,6	32,8*	32,8	63,9*	41,3	34,1	34,1	63,9*	41,2	35,2	34,1
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,050	0,034	0,028	0,028	0,051	0,035	0,029	0,029	0,051	0,036	0,030	0,029

\* = valores calculados con cautela.

Fuente: Elaboración propia

## Mercurio

En el control, así como en las dos concentraciones más bajas no se observaron peces con algún tipo de afección. En las cuatro concentraciones restantes (de 0,080 a 0,5 mg·L<sup>-1</sup>), los peces mostraron una respuesta letal o subletal, la cual aumentó casi de manera progresiva con los días de evaluación y concentración del metal. En la concentración más alta (0,5 mg·L<sup>-1</sup>) todos los peces mostraron una afección letal a las 24 h. Al final del ensayo (96 h), en la concentración N° 3 (0,080 mg·L<sup>-1</sup>) el porcentaje de peces que mostraron algún tipo de respuesta (< 12.5%) fue mucho menor al de las concentraciones N° 4 (0,16 mg·L<sup>-1</sup>) y N° 5 (0,20 mg·L<sup>-1</sup>) donde variaron del 80% al 100%.

En la Tabla 4-10 se presenta el número de peces afectados por concentración y hora de evaluación. En la Tabla 4-11 se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros analizados.

Los resultados de p fueron menores a 0,001, indicando que los resultados de por lo menos una de las concentraciones fueron diferentes a las otras, para cada momento de evaluación y efecto esperado (Tabla 4-11).

El valor de NOEC para todos los efectos y tiempos de evaluación fue el mismo, con 0,08 mg·L<sup>-1</sup>. De manera similar, el valor de LOEC no varió y fue 0,16 mg·L<sup>-1</sup>, para todos los casos (Tabla 4-11).

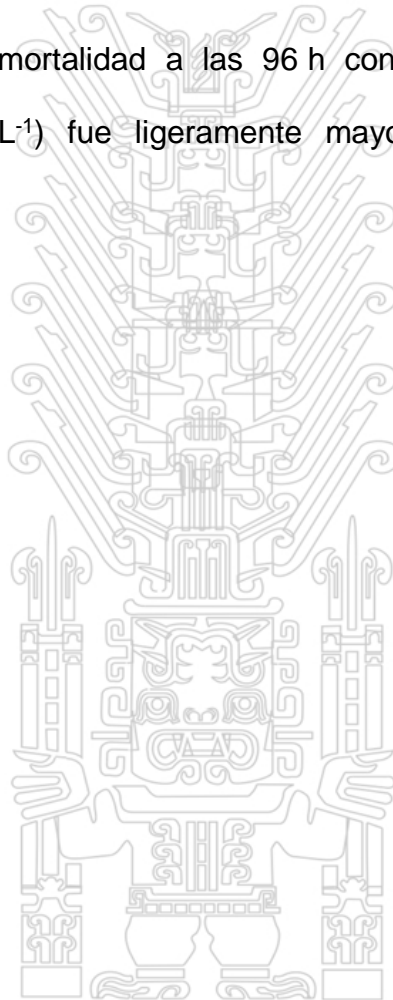
Los registros de CE<sub>50</sub> para nado extraño y movimiento opercular y CL<sub>50</sub> para mortalidad se incrementaron gradualmente con el tiempo de evaluación, siendo la CL<sub>50</sub> mayor a la CE<sub>50</sub> de movimiento opercular y este a su vez mayor a la CE<sub>50</sub> de

nado extraño, para cada momento de evaluación. Esta tendencia se mantuvo tanto para los resultados obtenidos con TRAP como Excel-Probit, siendo los valores muy

similares; aunque los valores resultantes con TRAP a las 24 h y 48 h fueron menores a los de Excel-Probit y a las 72 h y 96 h fueron mayores (Tabla 4-11).

Referente a los PNEC, fluctuaron de 0,00013 a 0,00040 mg·L<sup>-1</sup> para mortalidad, de 0,00013 a 0,00026 mg·L<sup>-1</sup> para movimiento opercular y de 0,00011 a 0,00025 mg·L<sup>-1</sup> para nado extraño, con los valores más bajos a las 96 h y los más altos a las 24 h en todos los casos, considerando lo obtenido con TRAP y Excel-Probit (Tabla 4-11).

El PNEC obtenido para mortalidad a las 96 h con TRAP (0,00013 mg·L<sup>-1</sup>) y Excel-Probit (0,00014 mg·L<sup>-1</sup>) fue ligeramente mayor al ECA Cat 4 / E2 para mercurio (0,00010 mg·L<sup>-1</sup>).



**Tabla 4-10: Individuos (%) de *Paracheiroidon innesi* con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con mercurio**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	0,013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,032	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,080	5	5	5	10	3	3	5	5	3	3	5	5
4	0,160	35	43	78	90	35	38	58	80	20	38	58	80
5	0,200	30	40	90	100	23	33	70	95	15	28	50	93
6	0,500	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 4-11: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en *Paracheiroidon innesi* en los ensayos definitivos con mercurio**

Método	Análisis	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Andeva	p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	F	70,2	120,7	329,3	537,0	78,0	93,9	74,5	249,4	296,1	111,5	134,7	200,7
Tukey	NOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080	0,080
	LOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160	0,160
Excel-Probit	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	0,253	0,207	0,132	0,113	0,259	0,224	0,155	0,127	0,400	0,236	0,175	0,129
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	0,182	0,157	0,110	0,094	0,190	0,171	0,126	0,106	0,265	0,178	0,137	0,107
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	0,351	0,275	0,158	0,137	0,352	0,292	0,192	0,151	0,605	0,313	0,223	0,154
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,00025	0,00021	0,00013	0,00011	0,00026	0,00022	0,00016	0,00013	0,00040	0,00024	0,00017	0,00013
TRAP	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	0,226	0,202	0,140*	0,120	0,240*	0,217	0,161	0,135	0,272*	0,226	0,178	0,137
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	0,187	0,176	0,128*	0,109	0,193*	0,185	0,147	0,123	0,246*	0,188	0,159	0,125
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	0,265	0,228	0,151*	0,131	0,287*	0,249	0,175	0,146	0,299*	0,264	0,197	0,148
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,00023	0,00020	0,00014	0,00012	0,00024	0,00022	0,00016	0,00013	0,00027	0,00023	0,00018	0,00014

\* = valores calculados con cautela.

Fuente: Elaboración propia

## Plomo

En las dos concentraciones más bajas (120 y 172 mg·L<sup>-1</sup>) y en el control, los peces no mostraron ninguna afectación. Por su parte, la concentración más alta generó la mortalidad del total de peces expuestos a las 24 h de iniciado el ensayo. Las restantes cuatro concentraciones (de 245 a 350 mg·L<sup>-1</sup>) provocaron efectos adversos en los peces expuestos, letal y subletal, que se incrementaron de manera continua con la concentración y el tiempo transcurrido, en la mayoría de los casos.

En la Tabla 4-12 se presenta el número de peces afectados por concentración y hora de evaluación. En la Tabla 4-13 se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros analizados.

Los resultados de p (< 0,001) reflejaron que al menos una de las concentraciones se distingue de las otras dentro de cada tiempo de evaluación para cada efecto esperado (Tabla 4-13).

Los valores de NOEC y LOEC presentaron la misma tendencia de variación y fueron los mismos para los tres efectos evaluados, disminuyendo de 280 mg·L<sup>-1</sup> (de 24 a 72 h) a 245 mg·L<sup>-1</sup> (96 h) para NOEC y de 315 mg·L<sup>-1</sup> (de 24 a 72 h) a 280 mg·L<sup>-1</sup> (96 h) para LOEC (Tabla 4-13).

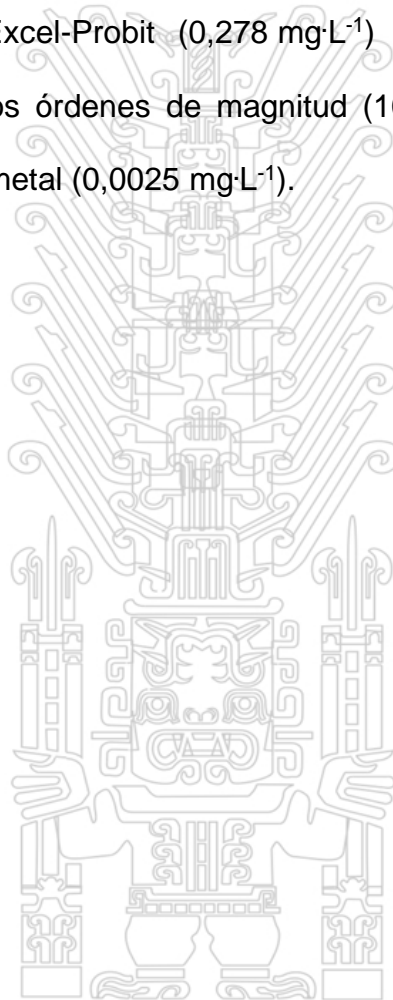
Los registros de CL<sub>50</sub> para mortalidad y CE<sub>50</sub> para nado extraño y movimiento opercular disminuyeron gradualmente con el tiempo de evaluación. Los valores de CL<sub>50</sub> para mortalidad y CE<sub>50</sub> para movimiento opercular fueron casi iguales, a excepción del valor para las 72 h, donde la CL<sub>50</sub> fue ligeramente mayor a la CE<sub>50</sub>.

Las CE<sub>50</sub> para nado extraño fueron menores a las CE<sub>50</sub> de movimiento opercular

en todos los tiempos de evaluación. Todos los valores obtenidos con TRAP fueron mayores a los de Excel-Probit (Tabla 4-13).

Respecto al PNEC, los valores oscilaron entre 0,273 mg·L<sup>-1</sup> y 0,316 mg·L<sup>-1</sup> para nado extraño, entre 0,278 mg·L<sup>-1</sup> y 0,318 mg·L<sup>-1</sup> para movimiento opercular, y entre 0,278 mg·L<sup>-1</sup> y 0,318 mg·L<sup>-1</sup> para mortalidad, con los registros más altos a las 24 h y los más bajos a las 96 h en los tres casos, considerando lo obtenido con TRAP y Excel-Probit (Tabla 4-13).

Para mortalidad a las 96 h de evaluación, los valores de PNEC calculados para TRAP (0,282 mg·L<sup>-1</sup>) y Excel-Probit (0,278 mg·L<sup>-1</sup>) fueron mucho más altos, ligeramente mayores a dos órdenes de magnitud (100 veces), que el valor del ECA Cat 4 / E2 para este metal (0,0025 mg·L<sup>-1</sup>).



**Tabla 4-12: Individuos (%) de *Paracheirodon innesi* con efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con plomo**

N° de solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	245	15	23	25	28	13	18	23	28	13	18	23	28
4	280	10	13	25	25	10	13	23	40	10	10	23	40
5	315	43	23	58	80	43	53	75	78	43	53	73	78
6	350	85	90	93	93	83	90	93	93	83	90	93	93
7	500	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 4-13: Efecto letal (E.L.) y subletal (E.S.) en *Paracheirodon innesi* en los ensayos definitivos con plomo**

Método	Análisis	Nado extraño (E.S.)				Movimiento opercular (E.S.)				Muerte (E.L.)			
		24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h	24 h	48 h	72 h	96 h
Andeva	p-valor	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
	F	47,7	39,3	53,3	48,8	54,4	54,6	53,6	37,6	54,4	52,9	47,5	37,6
Tukey	NOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	280	280	280	245	280	280	280	245	280	280	280	245
	LOEC (mg·L <sup>-1</sup> )	315	315	315	280	315	315	315	280	315	315	315	280
Excel-Probit	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	312	298	284	273	315	302	287	278	315	302	288	278
	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	290	277	265	253	293	282	268	259	293	283	269	259
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	336	319	304	294	339	323	307	300	339	323	308	300
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,312	0,298	0,284	0,273	0,315	0,302	0,287	0,278	0,315	0,302	0,288	0,278
	C(L/E) <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	316	303	289*	276	318*	307	292	282	318*	308	293	282
TRAP	C(L/E) <sub>50</sub> inf (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	304	292	279*	266	306*	296	282	272	306*	297	283	272
	C(L/E) <sub>50</sub> sup (mg·L <sup>-1</sup> ) - 95%	327	314	299*	286	329*	317	302	293	329*	318	303	293
	PNEC (mg·L <sup>-1</sup> )	0,316	0,303	0,289	0,276	0,318	0,307	0,292	0,282	0,318	0,308	0,293	0,282

\* = valores calculados con cautela.

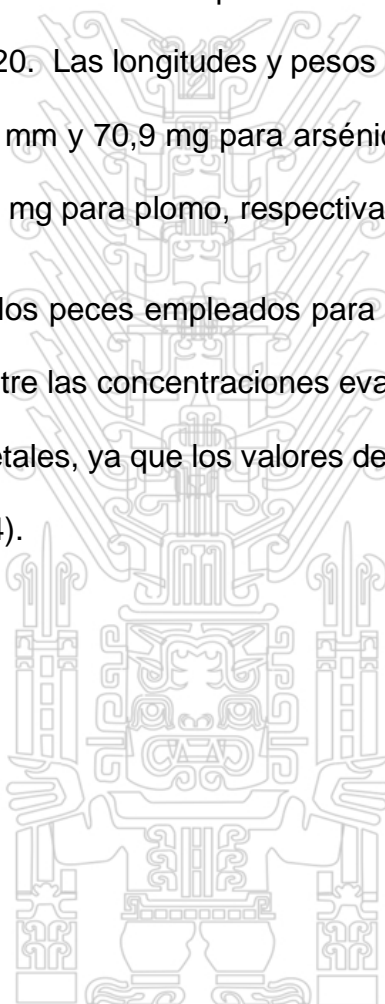
Fuente: Elaboración propia

### 4.1.3. Ensayos definitivos-Peces

Se emplearon un total de 1 120 peces para los ensayos definitivos, los cuales presentaron una longitud total que fluctuó de 15 a 25 mm con un promedio de 19,4 mm, y un peso húmedo que varió de 34 a 183 mg con un promedio de 72,6 mg (Tabla 4-14).

Para el ensayo con cadmio se usaron 240 peces en total, para arsénico y mercurio fueron 280, y para plomo 320. Las longitudes y pesos promedio fueron: 19,4 mm y 69,1 mg para cadmio, 19,0 mm y 70,9 mg para arsénico, 19,5 mm y 71,9 mg para mercurio, y 19,9 mm y 77,5 mg para plomo, respectivamente (Tabla 4-14).

Las longitudes y pesos de los peces empleados para los ensayos no presentaron diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas para cada metal, así como tampoco entre los metales, ya que los valores de p fueron mayores a 0,05 en todos los casos (Tabla 4-14).



**Tabla 4-14: Datos de longitud (mm) y peso (mg) de los individuos de *Paracheiroidon innesi* usados en los ensayos definitivos**

Metal	Conc. (mg·L <sup>-1</sup> )	N°	Longitud total (mm)		Peso húmedo (mg)	
			Min - Max	Prom ± DE	Min - Max	Prom ± DE
Arsénico	Control	40	(17 - 22)	19,2 ± 1,4	(58 - 95)	75,0 ± 14,1
	16,2	40	(16 - 21)	19,7 ± 1,6	(54 - 90)	73,8 ± 12,1
	27	40	(16 - 20)	18,3 ± 1,3	(40 - 86)	59,9 ± 15,5
	45	40	(17 - 21)	18,9 ± 1,4	(43 - 89)	68,8 ± 13,5
	75	40	(16 - 22)	18,5 ± 1,6	(44 - 137)	69,9 ± 26,5
	100	40	(16 - 23)	18,8 ± 2,3	(50 - 119)	69,8 ± 22,1
	125	40	(18 - 22)	19,9 ± 1,1	(62 - 93)	79,2 ± 9,8
	Global	280	(16 - 23)	19,0 ± 1,6	(40 - 137)	70,9 ± 17,3
	<b>p-valor</b>	-		0,21		0,29
<b>F</b>	-		1,43		1,25	
Cadmio	Control	40	(17 - 21)	19,3 ± 1,6	(37 - 84)	65,4 ± 13,6
	1,9	40	(15 - 23)	19,1 ± 2,2	(45 - 118)	71,0 ± 19,9
	5,4	40	(15 - 22)	19,1 ± 2,2	(34 - 111)	65,6 ± 22,0
	15,3	40	(18 - 22)	20,1 ± 1,2	(48 - 105)	73,5 ± 15,6
	43,8	40	(16 - 21)	18,7 ± 1,6	(43 - 89)	63,6 ± 14,6
	125	40	(18 - 23)	20,1 ± 1,5	(50 - 99)	75,5 ± 16,5
	Global	240	(15 - 23)	19,4 ± 1,8	(34 - 118)	69,1 ± 17,1
	<b>p-valor</b>	-		0,38		0,55
	<b>F</b>	-		1,07		0,80
Mercurio	Control	40	(18 - 22)	19,5 ± 1,2	(42 - 101)	69,8 ± 16,4
	0,013	40	(17 - 22)	19,1 ± 1,5	(43 - 89)	67,9 ± 14,2
	0,032	40	(17 - 23)	19,6 ± 1,9	(43 - 108)	70,3 ± 24,0
	0,080	40	(17 - 23)	20 ± 1,7	(50 - 119)	75,6 ± 19,8
	0,160	40	(17 - 22)	19,4 ± 1,7	(42 - 100)	69,4 ± 18,4
	0,200	40	(17 - 21)	18,7 ± 1,6	(44 - 98)	71,2 ± 16,4
	0,500	40	(18 - 25)	20,3 ± 1,9	(55 - 150)	79,1 ± 27,5
	Global	280	(17 - 25)	19,5 ± 1,7	(42 - 150)	71,9 ± 19,5
	<b>p-valor</b>	-		0,42		0,88
<b>F</b>	-		1,02		0,39	
Plomo	Control	40	(17 - 21)	19,6 ± 1,4	(46 - 93)	71,5 ± 17,9
	120	40	(18 - 22)	19,7 ± 1,3	(57 - 108)	80,4 ± 18,0
	172	40	(16 - 21)	19,0 ± 1,7	(34 - 84)	58,7 ± 17,1
	245	40	(17 - 22)	19,7 ± 1,6	(44 - 103)	75,5 ± 18,9
	280	40	(17 - 22)	18,4 ± 1,8	(51 - 183)	87,9 ± 43,3
	315	40	(18 - 21)	19,4 ± 1,1	(57 - 116)	76,3 ± 17,1
	350	40	(17 - 25)	20,2 ± 2,1	(65 - 146)	85,7 ± 22,8
	500	40	(19 - 22)	19,9 ± 1,1	(69 - 104)	84,0 ± 11,1
	Global	320	(16 - 25)	19,9 ± 1,6	(34 - 183)	77,5 ± 23,4
<b>p-valor</b>	-		0,25		0,11	
<b>F</b>	-		1,32		1,74	
<b>Total general</b>		1120	(15 - 25)	19,4 ± 1,6	(34 - 183)	72,6 ± 19,9
<b>p-valor</b>		-		0,29		0,06
<b>F</b>		-		1,24		2,39

Conc.= concentración; N° = número de individuos; Min = mínimo ; Max = máximo ; Prom = promedio ; DE = desviación estándar.

Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.4. Ensayos definitivos-Parámetros fisicoquímicos

##### Arsénico

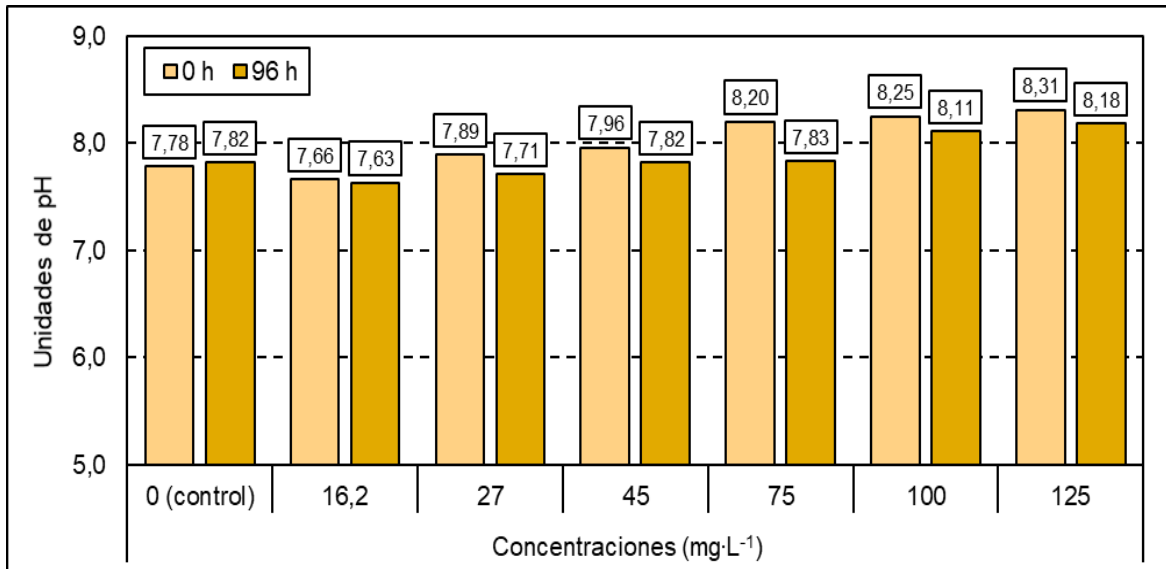
Los valores de pH, al iniciar y finalizar el ensayo mostraron una correlación positiva con las concentraciones de arsénico ( $r > 0,87$ ;  $p < 0,05$ ). Al finalizar el ensayo los valores disminuyeron ligeramente. Los valores, sin considerar el control fluctuaron de 7,66 a 8,31 a las 0 h y de 7,63 a 8,18 a las 96 h (Figura 4-1).

La conductividad, de manera similar al pH, mostró un incremento a medida que se incrementó las concentraciones de arsénico ( $r = 1$ ;  $p < 0,05$ ). Los valores al final del ensayo fueron ligeramente superiores a los medidos inicialmente, variando (sin considerar el control) de 541 a 730  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a las 0 h y de 558 a 763  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a las 96 h (Figura 4-2).

##### Cadmio

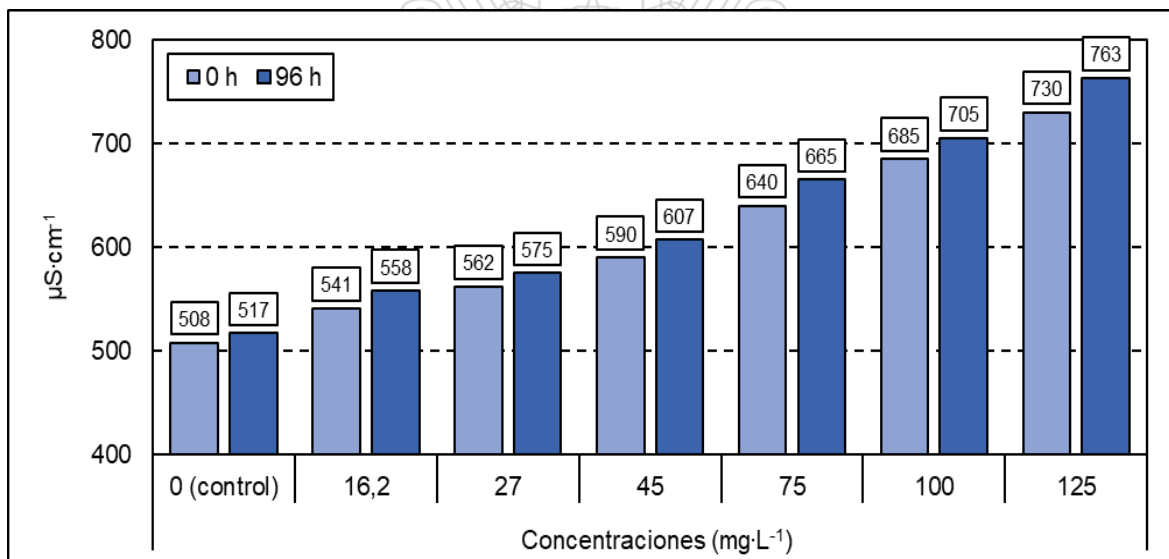
El pH mostró una correlación inversa con la concentración en las soluciones, al inicio y final del ensayo ( $r < -0,90$ ;  $p < 0,05$ ). Al finalizar el ensayo, los valores fueron ligeramente más bajos en las tres concentraciones más bajas, mientras que en las otras dos (las más altas) se registró un leve incremento. Los valores oscilaron, sin considerar el control, de 7,04 a 7,97 a las 0 h y de 7,21 a 7,74 a las 96 h (Figura 4-3).

Los registros de conductividad, opuesto al pH, presentaron una correlación directa con la concentración del metal en la solución, a las 0 y 96 h de lectura ( $r = 0,99$ ;  $p < 0,05$ ). Los valores fueron ligeramente mayores al final del ensayo, a excepción de la concentración más alta, donde se observó una ligera disminución. La conductividad, sin considerar el control, presentó registros de 518 a 630  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  y de 526 a 612  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , a las 0 y 96 h, respectivamente (Figura 4-4).



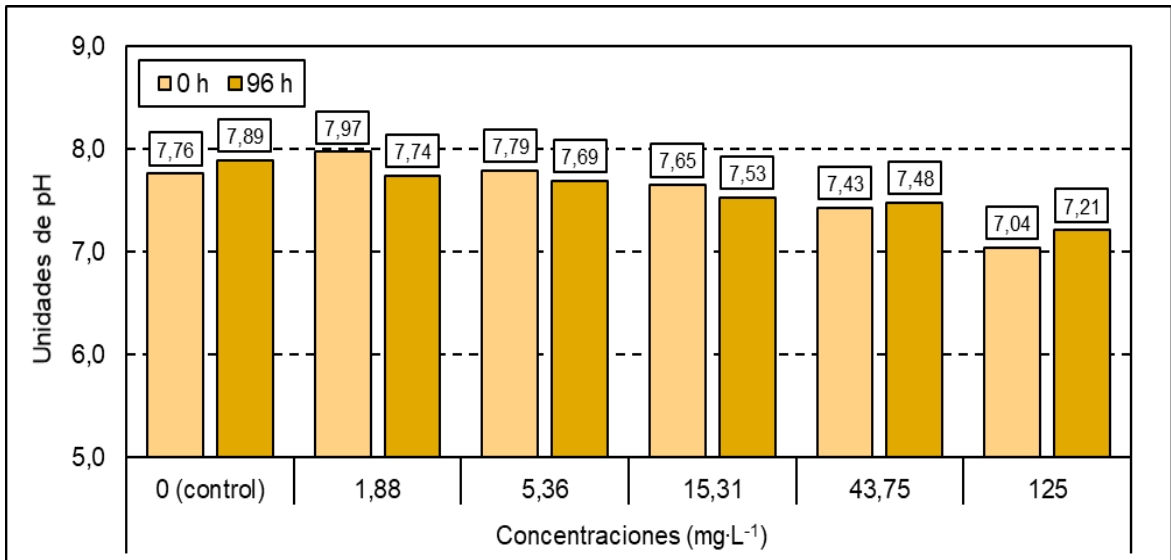
Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-1: pH registrado en los ensayos definitivos con arsénico sobre *Paracheiroidon innesi***



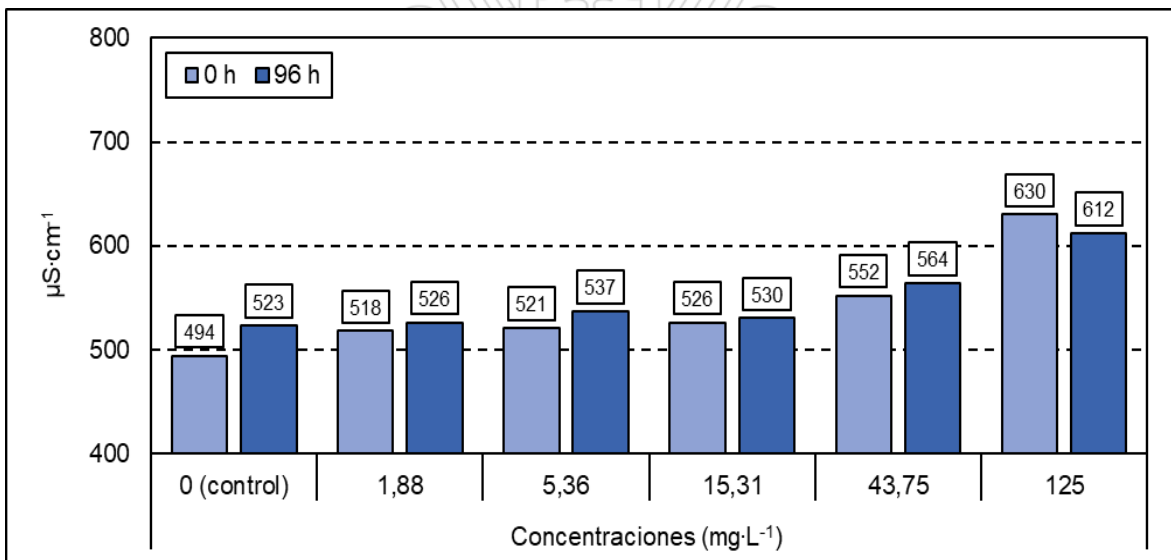
Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-2: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con arsénico sobre *Paracheiroidon innesi***



Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-3: pH registrado en los ensayos definitivos con cadmio sobre *Paracheiroidon innesi***



Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-4: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con cadmio sobre *Paracheiroidon innesi***

## Mercurio

En relación al pH, no se evidenció ninguna correlación con la concentración ni tendencia alguna entre el inicio y final del ensayo ( $r = 0,49 - 0 \text{ h}$  y  $0,09 - 96 \text{ h}$ ;  $p > 0,05$  para ambos casos). Los valores fluctuaron, sin considerar el control, entre 7,59 y 8,0 a las 0 h y entre 7,59 y 7,70 a las 96 h (Figura 4-5).

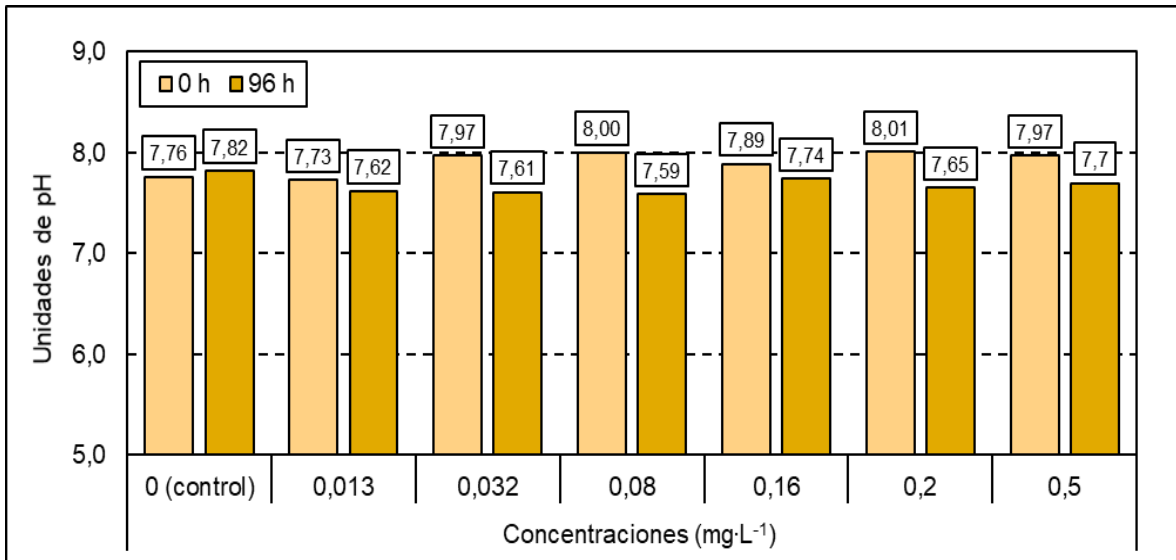
Respecto a la conductividad, los valores se incrementaron ligeramente casi de manera constante a medida que aumentaron las concentraciones del metal ( $r > 0,82$ ;  $p < 0,05$ ). La mayoría de los valores registrados al final del ensayo fueron mayores respecto a los del inicio. La conductividad varió, sin considerar el control, de 497 a 515  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a las 0 h y de 495 a 528  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a las 96 h (Figura 4-6).

## Plomo

El pH reportó una disminución progresiva con el incremento de la concentración del plomo ( $r < -0,82$ ;  $p < 0,05$ ), de manera similar al cadmio. Los valores al final del ensayo fueron más altos que los registrados inicialmente. Los registros estuvieron, sin considerar el control, entre 6,98 y 5,52 a las 0 h, y entre 7,58 y 5,81 a las 96 h (Figura 4-7).

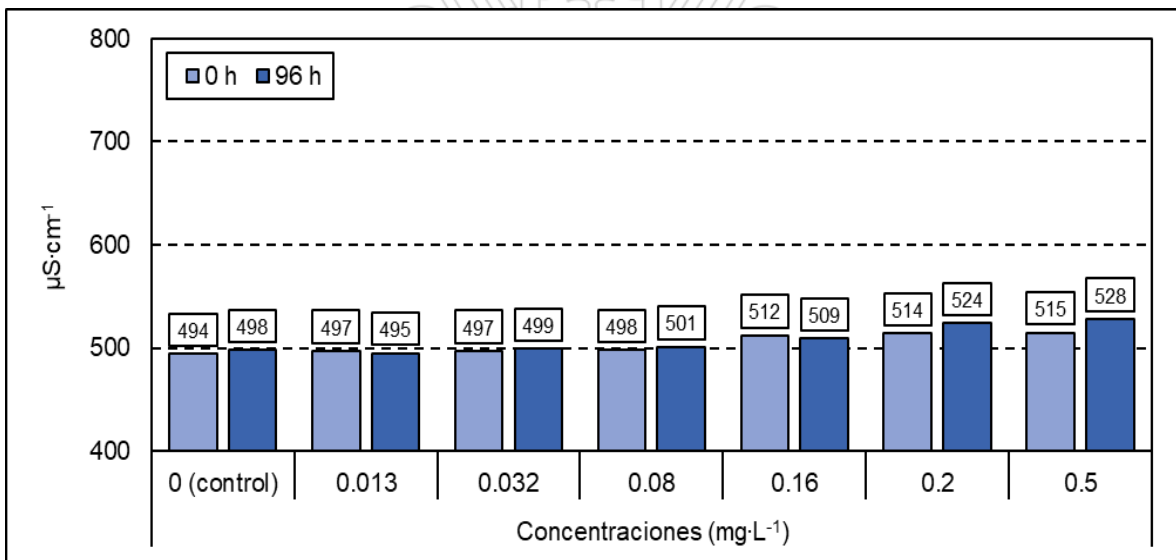
La conductividad, de manera similar a los otros metales, presentó una correlación directa con la concentración de plomo en la solución ( $r > 0,97$ ;  $p < 0,05$ ). La mayoría de los registros de conductividad al final del ensayo fueron mayores a los iniciales, a excepción de los valores en las dos concentraciones más altas, donde el comportamiento fue opuesto. Los valores de conductividad fluctuaron, sin considerar el control, de 547 a 682  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a las 0 h y de 549 a 679  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  a las

96 h (Figura 4-8).



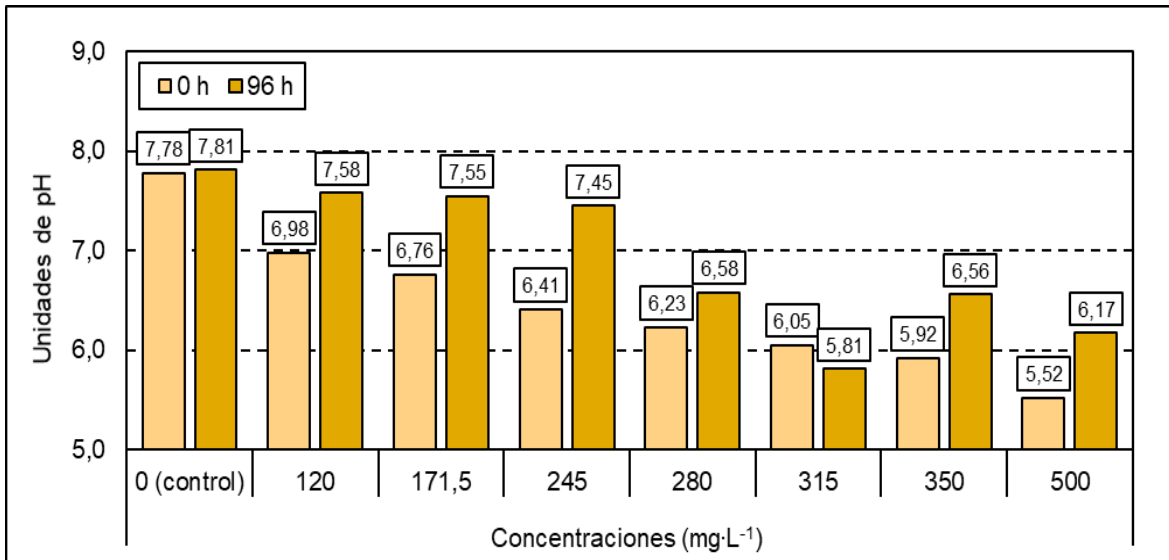
Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-5: pH registrado en los ensayos definitivos con mercurio sobre *Paracheiroduon innesi***



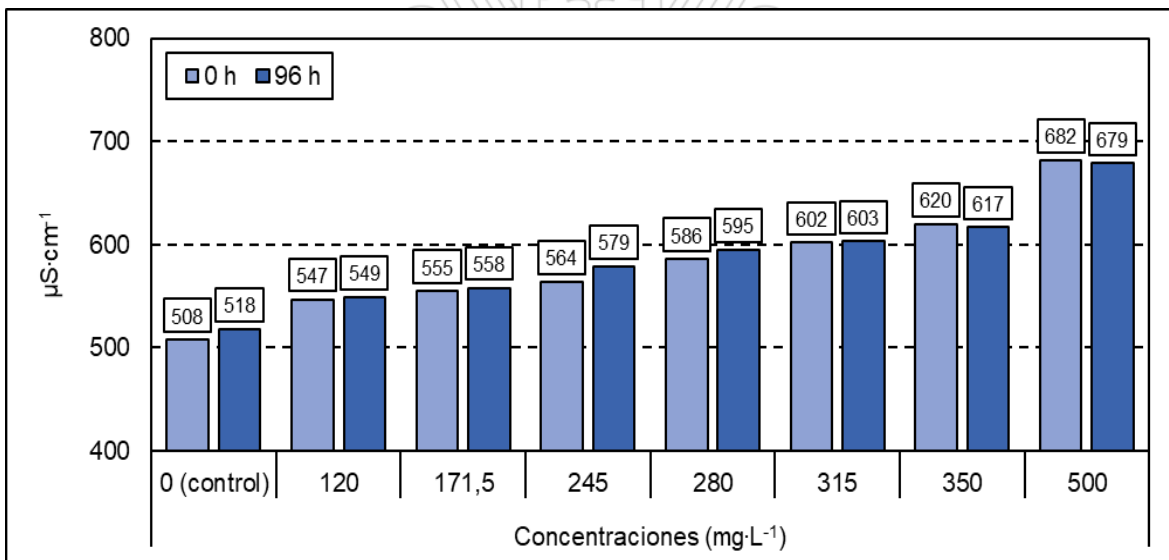
Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-6: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con mercurio sobre *Paracheiroduon innesi***



Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-7: pH registrado en los ensayos definitivos con plomo sobre *Paracheiroduon innesi***

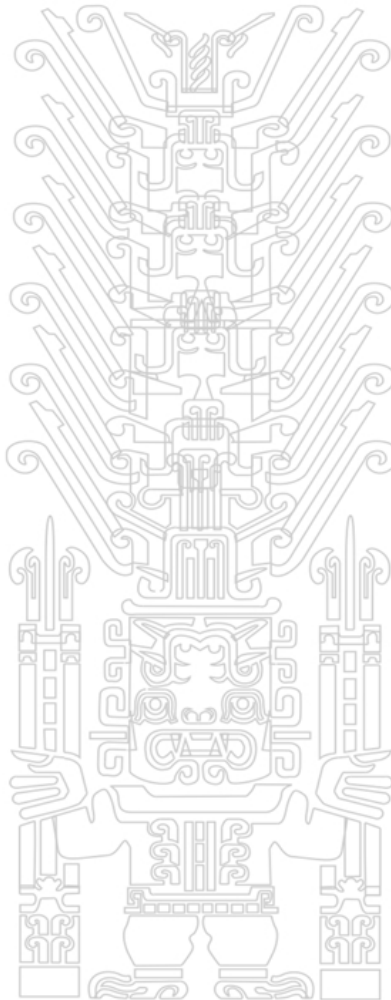


Fuente: Elaboración propia

**Figura 4-8: Conductividad registrada en los ensayos definitivos con plomo sobre *Paracheiroduon innesi***

## 4.2. Contrastación de Hipótesis

Los resultados obtenidos del ANDEVA, al comparar los resultados del control (sin metal) con las soluciones de prueba (con metal), que son descritos a lo largo de la Sección 4.1.2. Ensayos definitivos-Efectos, nos permiten señalar que los cuatro metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo, generan un efecto tóxico letal y efectos tóxicos subletales sobre el pez “neón tetra” *Paracheirodon innesi*.



## 5. CAPÍTULO V:

### DISCUSIÓN

#### 5.1 Discusión

El efecto letal de los metales (cobre, mercurio, plomo, y zinc), ha sido adscrito a la coagulación del moco de la superficie de las agallas, daño al tejido de las agallas y consecuentemente falla en la respiración. Incremento de movimiento opercular ha sido observado en peces expuestos a algunos metales pesados. Los síntomas por envenenamiento agudo de metales pesados en peces comprenden, rigidez del cuerpo, disminución de la motilidad y suspensión en la zona superficial con la parte posterior del cuerpo dirigida hacia el fondo. Estos síntomas son seguidos por la pérdida de balance y finalmente por el hundimiento del individuo en el fondo antes de la muerte (Sehgal & Saxena, 1987). Todos estos síntomas fueron observados durante los ensayos de los cuatro metales.

El orden de toxicidad del estudio fue: mercurio > cadmio > arsénico (forma arsenato) > plomo, lo cual es comparable, en cierta medida, a los hallazgos

de otras investigaciones. Buhl & Hamilton (1991) identificaron la siguiente clasificación de toxicidad, cadmio > mercurio > arsénico (arsenito), con el empleo

de individuos alevines (20 mm) y juveniles (43 mm) de trucha arcoíris (*O. mykiss*) en ensayos de toxicidad aguda empleando agua suave reconstituida (dureza de  $41 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ). Por otro lado, Hamilton & Buhl (1990a y 1990b) determinaron la toxicidad aguda para varios tóxicos con el uso de agua de quebrada (dureza de  $211 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ), teniendo como resultado el siguiente orden de toxicidad, cadmio > mercurio > arsénico (arsenito). Para pruebas con carpa cabezona *Pimephales promelas* (Rafinesque 1820) en agua blanda (dureza de  $44 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ), Spehar & Fiantdt (1986) reportaron este orden de toxicidad, cadmio > mercurio > arsénico (arsenito).

La diferencia del orden de toxicidad entre mercurio y cadmio, del presente estudio y otras investigaciones, podrían estar relacionadas con ciertos factores, tales como, características del agua de dilución (dureza, pH, temperatura, etc), especies y estadios (larva, alevín, juvenil, adulto) de los organismos de prueba, y aclimatación, entre otros, los cuales pueden modificar la toxicidad de los metales (Sprague 1985).

En los diversos estudios, se ha registrado que a mayor tiempo de exposición la  $CL_{50}$  disminuye, es decir que, el contaminante se vuelve más tóxico, y la tasa de individuos afectados, de manera letal y subletal, se incrementa, tanto para mercurio (Zakaria *et al.* 2016), arsénico (Liu *et al.* 2008), cadmio (Shuhaimi-Othman *et al.* 2012) y plomo (Erten-Unal *et al.* 1998).

De la Tabla 5-1 a la Tabla 5-4, se presenta una comparación de los valores de  $CL_{50}$  obtenidos a 96 h para arsénico, cadmio, mercurio y plomo, con especies de prueba estándar de peces pertenecientes a distintos grupos taxonómicos con hábitos ecológicos variables.

No obstante, los siguientes párrafos de discusión estarán enfocados en el contraste con los datos de tres especies: trucha arco iris *O. mykiss*, originaria de Nortamerica y con presencia en las aguas frías de la sierra del país; pez zebra *D. rerio*, proveniente del continente asiático, de ambientes acuáticos tropicales (similar a neón tetra) y ampliamente distribuida a nivel mundial por ser de fácil manejo; y guppy *Poecilia reticulata* (Peters 1859), de origen suramericano e introducida en cuerpos de agua continentales alrededor del mundo (incluido Perú).

Para arsénico el valor de  $CL_{50-96\ h}$  en el presente estudio fue 60,3 y 65,5  $mg\cdot L^{-1}$ . Para larvas y juveniles del pez zebra, Liu *et al.* (2008 y 2005), obtuvieron una  $CL_{50-96\ h}$  de 272 y 56  $mg\cdot L^{-1}$ , respectivamente, mostrando que los juveniles de esta especie presentan una sensibilidad similar a los alevines de neón tetra para el arsénico en forma de arsenato de sodio. Tisler & Zagorc-Koncan (2002), identificaron una  $CL_{50-96h}$  mucha más baja para el pez zebra (15,3  $mg\cdot L^{-1}$ ) y juveniles de trucha arco iris (28,1  $mg\cdot L^{-1}$ ), al emplear trióxido de arsénico en agua dura (dureza 250  $mg\cdot L^{-1}\ CaCO_3$ ). Para juveniles de trucha arco iris, Buhl y Hamilton (1990), registraron una  $CL_{50-96h}$  (67,5  $mg\cdot L^{-1}$ ) similar a la identificada para neón tetra al usar agua blanda (dureza 41  $mg\cdot L^{-1}\ CaCO_3$ ); sin embargo, la  $CL_{50-96h}$  se incrementó alrededor de seis veces ( $> 360\ mg\cdot L^{-1}$ ) empleando alevines de entre 7 y 10 semanas de vida (Tabla 5-1).

Respecto a cadmio, la  $CL_{50-96\ h}$  fue de 23,1 y 29,4  $mg\cdot L^{-1}$ ; siendo mucho mayor al valor registrado por Wang *et al.* (2013) y Chouikhi (1979) para el pez zebra, 6,5  $mg\cdot L^{-1}$  (individuos de 23 mm promedio) y 3,3  $mg\cdot L^{-1}$ , utilizando nitrato de cadmio en agua semidura (dureza 120  $mg\cdot L^{-1}\ CaCO_3$ ) y cloruro de cadmio,

respectivamente. Asimismo; fue mayor a lo obtenido por Canton & Slooff (1982)

Tesis publicada con autorización del autor

No olvide citar a los autores (3-4 semanas), 3,8  $mg\cdot L^{-1}$  en agua blanda y 11,1  $mg\cdot L^{-1}$  en agua dura,

**UNFV**

y fue 138 veces ( $0,17 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) lo reportado por Shuhaimi-Othman *et al.* (2013), al usar guppys adultos en agua blanda (dureza  $18,7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ); en ambos casos empleando cloruro de cadmio como tóxico. Sin embargo, lo registrado en el estudio fue menor a la  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$  de  $30,4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  reportada por Yilmaz & Karaoke (2004), que obtuvo usando guppys y cloruro de cadmio. Es importante resaltar que, lo obtenido para ejemplares de trucha arco iris (200-400 mg) por Mebane *et al.* (2008),  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$  de  $0,00084$  y  $0,00089 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , usando agua blanda (dureza  $7-22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ) y cloruro de cadmio, fue cinco órdenes de magnitud menor al presente estudio (Tabla 5-2).

Con el mercurio se obtuvo una  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$  de  $0,129$  y  $0,137 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para los neones, que no difiere en gran medida de lo reportado en otras investigaciones, como por ejemplo: por Wang *et al.* (2013) para peces zebra (23 mm promedio),  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$   $0,14 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (dureza  $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ); por Zakaria *et al.* (2016) y Morgan (1982) para guppys (de 25-35 mm y 2 semanas),  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$  de  $0,0958 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (dureza  $29,8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ) y  $0,2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente; empleando cloruro de mercurio. De igual manera, la  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$  registrada para trucha arco iris (expuesta a cloruro de mercurio) fue similar; Calamarai & Marchetti (1973) obtuvo  $0,016 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (dureza  $290-310 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ) para ejemplares de 120-160 mm de longitud; Buhl & Hamilton (1991) reportaron  $0,193$  y  $0,217 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (dureza de ambos  $41 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ ) con juveniles (43 mm promedio) y alevines (20 mm promedio), respectivamente (Tabla 5-3).

En relación al plomo, para el neón tetra se determinó una  $\text{CL}_{50-96 \text{ h}}$  de 278 y  $282 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; valores que están muy por encima de lo obtenido en las otras

investigaciones (entre 1 y 5 órdenes de magnitud) con pez zebra (Alsop & Wood 2011), guppy (Gadkary & Marathe 1983) y trucha arco iris

Tesis publicada con autorización del autor

No olvide citar esta tesis

UNFV

(Buhl & Hamilton 1990, Hammermeister *et al.* 1982) empleando nitrato de plomo como tóxico; a excepción de lo reportado por Sehgal & Saxena (1987) para guppies, 1 632 y 1 625 mg·L<sup>-1</sup> (dureza 71 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>, ambos), para hembras (promedio de 19 mm) y machos (promedio de 17 mm), respectivamente (Tabla 5-4).

Como se mencionó anteriormente, existen muchos factores que pueden afectar en distinta medida la toxicidad de los metales. La dureza, alcalinidad y contenido orgánico del agua disminuyen la biodisponibilidad y por ende la toxicidad de los metales en el medio acuático (Spehar & Fiantdt 1986). Así, por ejemplo, la dureza del agua afecta en mayor medida a la toxicidad ejercida por cadmio, cobre y plomo en comparación con la manifestada por el arsénico, mercurio y plomo (US EPA 1984). En agua blanda, el cadmio puede llegar a ser de 5 a 30 veces más potente que en agua dura (Canton & Slooff 1982)

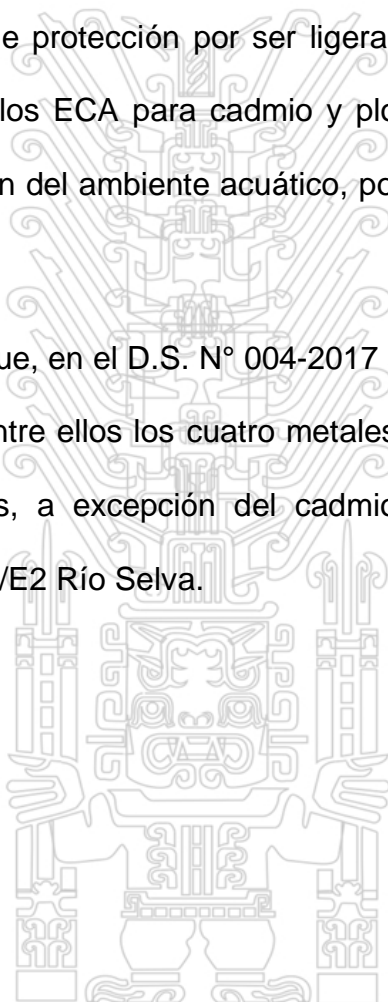
Las especies presentan distintas sensibilidades a la toxicidad de los diversos metales, las cuales se deben a las variaciones biológicas naturales de la composición genética de las poblaciones y condiciones individuales de los peces. Es usual que la variación sea menor dentro de una especie, considerando los estadíos, la condición de salud, condiciones del medio natural de origen; y mayor entre especies (Zakaria *et al.* 2016). Asimismo, los resultados obtenidos en los ensayos de toxicidad podrían estar influenciados por la historia de vida de los peces empleados, de donde provienen (Bishop & McIntosh 1981).

Algunos indican que las larvas generalmente son el estadío más sensible de los peces para contaminantes, tales como los metales (Alsop & Wood 2011). Sin embargo, muchos estudios, han demostrado tener resultados opuestos. Buhl &

Hamilton (1991) identificaron que los juveniles fueron más sensibles a los tóxicos (entre ellos arsénico, cadmio y mercurio) que los alevines.

Al contrastar los valores de PNEC para mortalidad a 96 h de exposición con los ECA Cat-4 /E2 Río Selva, se identificó que, de los cuatro metales evaluados, el ECA para arsénico no brindaría protección alguna para la vida acuática, al estar muy por encima de los PNEC estimados. Por su parte el ECA para mercurio, ofrecería un cierto grado de protección por ser ligeramente menor de los PNEC calculados. Por otro lado, los ECA para cadmio y plomo si serían apropiados y asegurarían la conservación del ambiente acuático, por estar muy por debajo que los PNEC inferidos.

Es importante mencionar que, en el D.S. N° 004-2017 se indica que los valores de los distintos parámetros, entre ellos los cuatro metales de estudio, se encuentran en concentraciones totales, a excepción del cadmio, donde se precisa como disuelto para el ECA Cat-4 /E2 Río Selva.

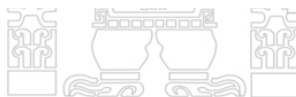


**Tabla 5-1: Comparación de CL<sub>50-96h</sub> para arsénico con especies de peces**

Orden/ Familia	Especie Nombre común	Distribución natural	Método de exposición	Estadio / Tiempo Tamaño / Peso	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> de CaCO <sub>3</sub> )	Tóxico	Fórmula	CL <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Autor y año
Cypriniformes Cyprinidae	<i>Danio rerio</i>	Sudeste asiático	Estático s.r.	s.d.	250	Trióxido de arsénico	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	15,3	Tisler y Zagorc-Koncan (2002)
	Pez zebra / Zebrafish		Estático c.r.	Larva / 4 días	s.d.	Arsenato de sodio	NaH <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	272,0	Liu <i>et al.</i> (2008)
			Estático c.r.	Juvenil / 37 días	s.d.	Arsenato de sodio	NaH <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	56,0	Liu <i>et al.</i> (2005)
	<i>Pimephales promelas</i> Carpa cabezona / Fathead minnow	Norteamérica	Estático c.r.	4-6 días / 1,2-1,6 mm / 0,8-1,4 mg	140	Arsenato de sodio	NaH <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	17,9	Buhl (2002)
Perciformes Centrarchidae	<i>Lepomis macrochirus</i> Mojarra oreja azul / Bluegill	Norteamérica	Estático s.r.	44 mm / 800 mg	52	Arsenito de sodio	NaAsO <sub>2</sub>	15,2	Inglis y Davis (1972)
			Estático s.r.	44 mm / 800 mg	208	Arsenito de sodio	NaAsO <sub>2</sub>	16,2	Inglis y Davis (1972)
			Estático s.r.	44 mm / 800 mg	365	Arsenito de sodio	NaAsO <sub>2</sub>	15,4	Inglis y Davis (1972)
			Estático	s.d.	s.d.	Arsenito de sodio	NaAsO <sub>2</sub>	62	US EPA (1992)
			Estático	s.d.	s.d.	Arsenito de sodio	NaAsO <sub>2</sub>	63,3	US EPA (1992)
Salmoniformes Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Trucha arco iris / Rainbow trout	Norteamérica	Estático s.r.	Juvenil / 60 mm	250	Trióxido de arsénico	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	28,1	Tisler y Zagorc-Koncan (2002)
			Estático s.r.	Alevín / 7-10 semanas	41,3	Arsenato de sodio	NaH <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	> 360	Buhl y Hamilton (1990)
			Estático s.r.	Juvenil / 1 040 mg	41,3	Arsenato de sodio	NaH <sub>2</sub> AsO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	67,5	Buhl y Hamilton (1990)
Siluriformes Ictaluridae	<i>Ictalurus punctatus</i> Pez gato americano / Channel catfish	Norteamérica	Flujo	Juvenil / 6 meses / 66 mm / 2 400 mg	140	Arsenito de sodio	NaAsO <sub>2</sub>	18	Cardwell <i>et al.</i> (1976)

s.d. = sin dato; s.r. = sin renovación; c.r. = con renovación.

Fuente: Elaboración propia



**Tabla 5-2: Comparación de CL<sub>50-96h</sub> para cadmio con especies de peces**

Orden/ Familia	Especie Nombre común	Distribución natural	Método de exposición	Estadio / Tiempo Tamaño / Peso	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> de CaCO <sub>3</sub> )	Tóxico	Fórmula	CL <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Autor y año
Cypriniformes Cyprinidae	<i>Danio rerio</i> Pez zebra / Zebrafish	Sudeste asiático	Estático s.r.	23 mm / 220 mg	120	Nitrato de cadmio	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N*4H <sub>2</sub> O	6,5	Wang <i>et al.</i> (2013)
	Estático		s.d.	s.d.	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	3,3	Chouikhi (1979)	
	<i>Pimephales promelas</i> Carpa cabezona / Fathead minnow	Norteamérica	Estático s.r.	< 24 horas	s.d.	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	0,237	Erten-Unal (1998)
			Estático s.r.	2-4 días	6-28	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	0,0048	Suedel <i>et al.</i> (1997)
			Estático s.r.	40 mm	100	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	3,06	Birge <i>et al.</i> (1983)
Cyprinodontiformes Poeciliidae	<i>Poecilia reticulata</i> Guppy	Suramérica	Estático s.r.	40 mm	250	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	7,16	Birge <i>et al.</i> (1983)
			Estático c.r.	Adulto	18,7	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	0,17	Shuhaimi-Othman <i>et al.</i> (2013)
			Estático s.r.	s.d.	s.d.	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	30,4	Yilmaz y Karakose (2004)
			Estático c.r.	3-4 semanas	Agua suave	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	3,8	Canton y Slooff (1982)
Perciformes Centrarchidae	<i>Lepomis macrochirus</i> Mojarra oreja azul / Bluegill	Norteamérica	Estático s.r.	3-4 semanas	Agua dura	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	11,1	Canton y Slooff (1982)
			Estático s.r.	1 día	45	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	8,81	Spehar y Carlson (1984)
Salmoniformes Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Trucha arco iris / Rainbow trout	Norteamérica	Estático s.r.	s.d.	18	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	2,3	Bishop y McIntosh (1981)
			Estático c.r.	Peccecillo / 200-400 mg	7-22	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	0,00084	Mebane <i>et al.</i> (2008)
Siluriformes Ictaluridae	<i>Ictalurus punctatus</i> Pez gato americano / Channel catfish	Norteamérica	Estático c.r.	Peccecillo / 200-400 mg	7-22	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	0,00089	Mebane <i>et al.</i> (2008)
			Estático s.r.	Juvenil / 600-700 mg	45	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	7,94	Spehar y Carlson (1984)
			Flujo	7000 mg	44	Cloruro de cadmio	CdCl <sub>2</sub>	4,48	Phipps y Holcombe (1985)

s.d. = sin dato; s.r. = sin renovación; c.r. = con renovación.

Fuente: Elaboración propia



**Tabla 5-3: Comparación de CL<sub>50-96h</sub> para mercurio con especies de peces**

Orden/ Familia	Especie Nombre común	Distribución natural	Método de exposición	Estadio / Tiempo Tamaño / Peso	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> de CaCO <sub>3</sub> )	Tóxico	Fórmula	CL <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Autor y año
Cypriniformes Cyprinidae	<i>Danio rerio</i> Pez zebra / Zebrafish	Sudeste asiático	Estático s.r.	23 mm / 220 mg	120	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,14	Wang <i>et al.</i> (2013)
	<i>Pimephales promelas</i> Carpa cabezona / Fathead minnow	Norteamérica	Flujo	juvenil / 3 meses	45,7	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,168	Snarski y Olson (1982)
			Flujo	30-32 días / ~20 mm	42,8	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,15	Call <i>et al.</i> (1983)
Cyprinodontiformes Poeciliidae	<i>Poecilia reticulata</i> Guppy	Suramérica	Estático c.r.	25-35 mm	29,8	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,0958	Akhma <i>et al.</i> (2016)
			Estático s.r.	2 semanas	s.d.	s.d.	s.d.	0,2	Morgan (1982)
Perciformes Centrarchidae	<i>Lepomis macrochirus</i> Mojarra oreja azul / Bluegill	Norteamérica	Estático c.r.	s.d.	s.d.	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,4	Abdelghani <i>et al.</i> (1995)
			Estático s.r.	600 mg	45	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,16	Holcombe (1983)
Salmoniformes Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Trucha arco iris / Rainbow trout	Norteamérica	Flujo	120-160 mm	290-310	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,016	Calamari y Marchetti (1973)
			Flujo	juvenil / 43 mm	41	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,193	Buhl y Hamilton (1991)
			Flujo	alevín / 20 mm	41	Cloruro de mercurio	HgCl <sub>2</sub>	0,217	Buhl y Hamilton (1991)

s.d. = sin dato; s.r. = sin renovación; c.r. = con renovación.

Fuente: Elaboración propia



**Tabla 5-4: Comparación de CL<sub>50-96h</sub> para plomo con especies de peces**

Orden/ Familia	Especie Nombre común	Distribución natural	Método de exposición	Estadio / Tiempo Tamaño / Peso	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> de CaCO <sub>3</sub> )	Tóxico	Fórmula	CL <sub>50</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Autor y año
Cypriniformes Cyprinidae	<i>Danio rerio</i> Pez zebra / Zebrafish	Sudeste asiático	Flujo	Larva	7,8	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,0529	Alsop y Wood (2011)
	Flujo		Larva	141	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>0.590	Alsop y Wood (2011)	
	<i>Pimephales promelas</i>	Norteamérica	Flujo	~ 30 d / 150 mg	43	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,1	Spehar y Fiantd (1986)
	<i>Carpa cabezona / Fathead minnow</i>		Flujo	Pecesillo / 4 días	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,7	Hammermeister (1982)
	Flujo		Pecesillo / 4 días	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5,2	Hammermeister (1982)	
Cyprinodontiformes Poeciliidae	<i>Poecilia reticulata</i> Guppy	Suramérica	Flujo	Adulto	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	15,5	Gadkari y Marathe (1983)
			Flujo	Adulto	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	12,5	Gadkari y Marathe (1983)
			Flujo	Pececillo	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7,3	Gadkari y Marathe (1983)
			Flujo	Hembra / 19 mm / 3.1 mg	71	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1632	Sehgal y Saxena (1987)
			Flujo	Macho / 17 mm / 3.1 mg	71	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1625	Sehgal y Saxena (1987)
Perciformes Centrarchidae	<i>Lepomis macrochirus</i> Mojarra oreja azul / Bluegill	Norteamérica	Flujo	4 cm	s.d.	Acetato de plomo	Pb(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	400	Ellgaard y Rudner (1982)
			s.d.	s.d.	s.d.	Cloruro de plomo	PbCl <sub>2</sub>	23,8	Pickering y Henderson (1966)
			s.d.	s.d.	s.d.	Cloruro de plomo	PbCl <sub>2</sub>	442	Pickering y Henderson (1966)
Salmoniformes Salmonidae	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Trucha arco iris / Rainbow trout	Norteamérica	Estático s.r.	Alevín / 7-10 semanas	41,3	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	30	Buhl y Hamilton (1990)
			Estático s.r.	Juvenil / 1040 mg	41,3	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	< 1.7	Buhl y Hamilton (1990)
			Flujo	3 meses	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2	Hammermeister <i>et al.</i> (1982)
			Flujo	3 meses	s.d.	Nitrato de plomo	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,58	Hammermeister <i>et al.</i> (1982)
Siluriformes Ictaluridae	<i>Ictalurus punctatus</i> Pez gato americano / Channel catfish	Norteamérica	s.d.	s.d.	s.d.	Arseniato de plomo	PbHAsO <sub>4</sub>	> 100	Mayer y Ellersieck (1986)

s.d. = sin dato; s.r. = sin renovación.

Fuente: Elaboración propia



## 5.2 Conclusiones

5.2.1. Los valores de  $CL_{50-96h}$  indicaron que el grado de toxicidad de los metales evaluados con neón tetra, en orden descendente, fue: mercurio > cadmio > arsénico > plomo.

5.2.2. Los valores de  $CL_{50-96h}$  identificados para arsénico, cadmio, mercurio y plomo con el empleo de neón tetra mediante los métodos Excel-Probit y TRAP fueron similares: 60,3; 23,1; 0,129 y 278  $mg \cdot L^{-1}$ , con el método Excel-Probit; y 65,5; 29,4; 0,137 y 282  $mg \cdot L^{-1}$ , con el método TRAP, respectivamente.

5.2.3. Los valores de  $CE_{50}$  a distintos tiempos de evaluación para el nado extraño y movimiento opercular acelerado, obtenidos para arsénico, cadmio, mercurio y plomo con neón tetra a través de los métodos Excel-Probit y TRAP fueron similares.

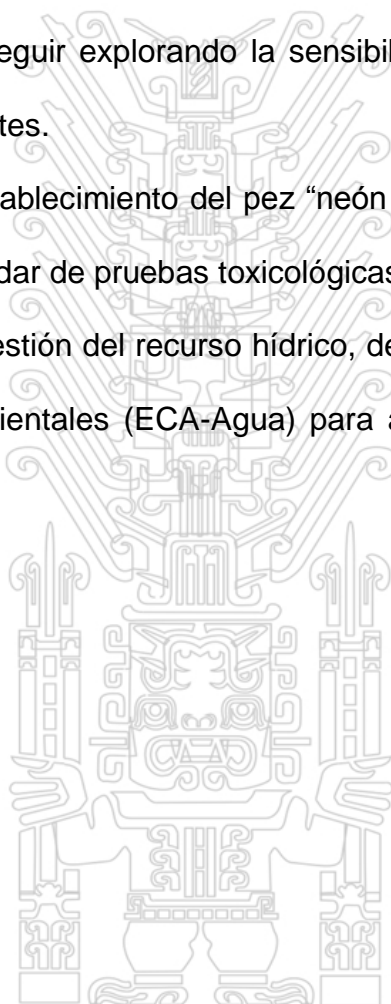
5.2.4. En base a los PNEC estimados y su comparación con los ECA Cat-4 /E2 Río Selva, aplicables vigentes, se puede indicar que la concentración límite para arsénico no es apropiada y su cumplimiento no aseguraría la conservación del medio acuático.

## 5.3 Recomendaciones

5.3.1. Seguir incluyendo la temática de ensayos toxicológicos en futuras tesis universitarias, usando especies propias de Perú, como indicadores biológicos del ecosistema para distintos tóxicos.

5.3.2. Continuar con los bioensayos empleando distintos estadíos del neón tetra y variaciones de las condiciones fisicoquímicas del medio acuático de las pruebas, para seguir explorando la sensibilidad de esta especie a los agentes contaminantes.

5.3.3. Evaluar el establecimiento del pez “neón tetra” *Paracheirodon innesi* como especie estándar de pruebas toxicológicas para el territorio nacional y emplearla para la gestión del recurso hídrico, de manera complementaria a los estándares ambientales (ECA-Agua) para agentes físicos, químicos y biológicos.



## 5.4 Referencias Bibliográficas

- Albert L. 1997. Introducción a la toxicología ambiental. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, División de Salud y Ambiente: Organización Panamericana de la Salud: Gobierno del Estado de México, Secretaría de Ecología.
- Alsop D. y Wood C. 2011. Metal Uptake and Acute Toxicity in Zebrafish: Common Mechanisms Across Multiple Metals. *Aquatic Toxicology*, 105: 385-393.
- (ATSDR) Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. 2017. Recuperado en noviembre 2017 de: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts5.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts5.html)
- Bishop W. y McIntosh A. 1981. Acute Lethality and Effects of Sublethal Cadmium Exposure on Ventilation Frequency and Cough Rate of Bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Environmental Contamination and Toxicology*, 10: 519-530.
- Bradl H. 2005. Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation. Elsevier/Academic Press, London.
- Buhl K. y Hamilton S. 1990. Comparative Toxicity of Inorganic Contaminants Released by Placer Mining to Early Life Stages of Salmonids. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 20: 325-342.
- Buhl K. y Hamilton S. 1991. Relative Sensitivity of Early Life Stages of Arctic Grayling, Coho Salmon, and Rainbow Trout to Nine Inorganics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 22: 184-197.

- Calamari D. y Marchetti R. 1973. The Toxicity of Mixtures of Metals and Surfactants to Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Rich.). *Water Research*, 7: 1453-1464.
- Canton J. y Slooff W. 1982. Toxicity and Accumulation Studies of Cadmium ( $Cd^{2+}$ ) with Freshwater Organisms of Different Trophic Levels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 6: 113-128.
- Castillo G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IMTA, México.
- Chouikhi A. 1979. Choice and Set Up of the Food Chains in Freshwater in Order to Show the Bioaccumulation Character of a Pollutant. OECD-IRCHA Universite Paris-Sud, Unite d'Enseignement et de Recherche d'Hygiene et Protection de l'Homme et de son Environnement.
- Contelles E. 2011. Emergencias: Aplicaciones Básicas para la Elaboración de un Manual de Autoprotección. Editorial Marcombo S.A.
- DiFrancesco D. y Shinn R. 2001. New Jersey Mercury Task Force Report. New Jersey Department of Environmental Protection.
- Erten-Unal M., Wixson B., Gale N. y Pitt J. 1998. Evaluation of Toxicity, Bioavailability and Speciation of Lead, Zinc and Cadmium in Mine/Mill Wastewaters. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10: 37-46.
- Gadkari A. y Marathe V. 1983. Toxicity of Cadmium and Lead to a Fish and a Snail from Two Different Habitats. *IAWPC Technical Annual*, X: 141-148.
- Gamez C. y Ramirez E. 2008. Determinación de la concentración letal media ( $CL_{50-48}$ ) del herbicida roundup 747 sobre ecosistemas acuáticos mediante

pruebas toxicológicas con *Daphnia magna*. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero en Ciencias Ambientales.  
 No olvide citar esta tesis

**UNFV**

Título de Ingenieros Ambientales y Sanitarios. Universidad de la Salle, Colombia.

- Hagen. 2017. Una Guía para la Instalación y Mantenimiento de un Hermoso Acuario. Recuperado en noviembre de 2017 de:  
<http://www.hagen.com/pdf/aquatic/BasicAquaGuide-SPA.pdf>
- Hamilton S. y Buhl K. 1990a. Acute toxicity of boron, molybdenum, and selenium to fry of chinook salmon and coho salmon. *Environmental Contamination and Toxicology*, 19: 366-373.
- Hamilton S. y Buhl K. 1990b. Safety assessment of selected inorganic elements to fry of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 20: 307-324.
- Hammermeister D., Northcott C., Brooke L. y Call D. 1982. Comparison of Copper, Lead and Zinc Toxicity to Four Animal Species in Laboratory and St. Louis River Water. Center for Lake Superior Environmental Studies, University of Wisconsin, Superior.
- Hedtke J., Robinson-Wilson E., y Weber L. 1982. Influence of body size and developmental stage of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) on lethality of several toxicants. *Toxicological Sciences*, 2: 67-72.
- Hernández R., Fernández C. y Baptista M. 2010. Metodología de la Investigación. México: 5ª edición. Editorial McGraw-Hill.
- Iannacone J., Onofre R. y Huanqui O. 2007a. Efectos ecotoxicológicos del cartap sobre la *Poecilia reticulata* “guppy” (Poeciliidae) y *Paracheiroidon innesi* “neon tetra” (Characidae). *Guayana*, 71: 170-177.
- Iannacone J., Onofre R., Huanqui S., Giraldo A., Mamani P., Miglio T. y

metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no destinatarios. Agricultura Técnica (Chile), 67: 126-138.

- Iannacone J., Alvariño L., Paredes C., Alayo M., Mamani N., Bonifacio J., Mariano M. y Miglio M. 2011. Evaluación del riesgo ambiental de carbofurano en bioensayos con organismos no blanco. Acta Toxicológica Argentina, 19: 19-31.
- Kucharczyk D., Targonska K., Zarski D., Krejszef S., Kupren K., Luczynski M. y Szczerbowski A. 2010. The reproduction of neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936), under controlled conditions. Polish Journal of Natural Sciences, 25: 81-92.
- Kumari B., Kumar V., Sinha A., Ahsan J., Ghosh A., Wang H. y DeBoeck G. 2016. Toxicology of arsenic in fish and aquatic system. Environmental Chemistry Letters, 15: 43-64.
- Liu F., Kendall R. y Theodorakis C. 2005. Joint Toxicity of Sodium Arsenate and Sodium Perchlorate on Zebrafish *Danio rerio* Larvae. Environmental Toxicology and Chemistry, 24: 1505-1507.
- Liu F., Gentles A. y Theodorakis CW. 2008. Arsenate and perchlorate toxicity, growth effects, and thyroid histopathology in hypothyroid zebrafish *Danio rerio*. Chemosphere, 71: 1369-1376.
- Lythgoe J. y Shand J. 1983. Endogenous circadian retinomotor movements in the neon tetra (*Paracheirodon innesi*). Investigate ophthalmology and visual science, 24: 1203-1210.
- Marines V. 2006. Análisis de la Concentración de Metales y Compuestos Orgánicos Persistentes en Peces en una Sección de la Cuenca del Río

de Maestra en Ciencias. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey.

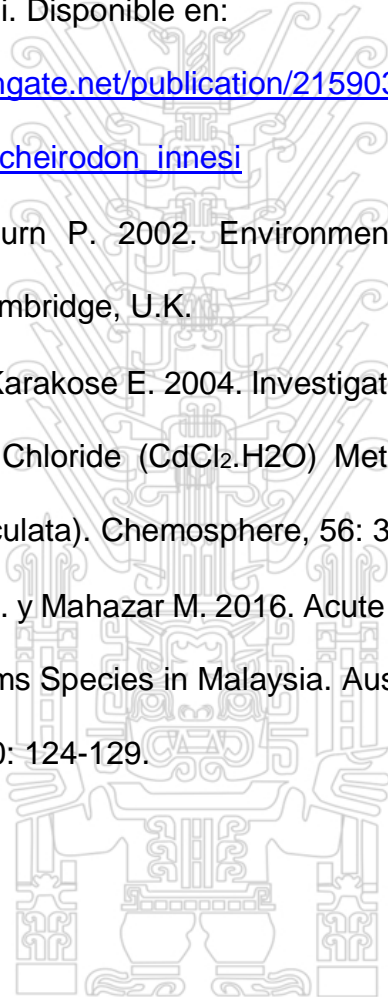
- Martinez C., Nagae M., Zaia C. y Zaia D. 2004. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. Brazilian Journal of Biology, 64: 797-807.
- Mebane C., Hennessy D. y Dillon F. 2008. Developing Acute-to-Chronic Toxicity Ratios for Lead, Cadmium, and Zinc Using Rainbow Trout, a Mayfly, and a Midge. Water Air Soil Pollution, 188: 41-66.
- Morales B. y Blanco I. 2011. Determinación de la Concentración de Inhibición Media ( $CI_{50-120}$ ) del Molibdeno y el Litio en Semillas de Lechuga (*Lactuca Sativa L.*) Mediante Ensayos de Toxicidad. Trabajo de Grado para optar al Título de Ingeniería Ambiental Sanitaria. Universidad de La Salle.
- Morgan W. 1982. The Development of Continuous Automatic Biological Monitoring Systems for Water Quality Control. A thesis to obtain the degree of Doctor of Philosophy in the Faculty of Science, University of Cape Town.
- Naigaga I., Kaiser H., Muller W., Ojok L., Mbabazi D., Magezi G. y Muhumuza E. 2011. Fish as bioindicators in aquatic environmental pollution assessment: A case study in Lake Victoria wtladns, Uganda. Physics and Chemistry of the Earth, 36: 918-928.
- Nanorisk. 2017. Guía Orientativa sobre los Controles Recomendados para Mitigar el Riesgo Potencial del Trabajo con Nanomateriales.
- (OECD) Organization for Economic Co-operation and Development. 1992. Guideline for testing of chemicals. Fish, Acute Toxicity Test.
- OECD. 2011. Manual for the Assessment of Chemicals.

- Palao Y. 2017. Bioensayos de Ecotoxicidad Aguda de las Aguas Residuales de la Ciudad de Puno sobre *Hyalella cuprea* (Anphípoda: Hyalellidae) Cultivada en Laboratorio. Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano.
- Palacios S., Sandoval N., Bueno Ch. y Manchego A. 2015. Estudio microbiológico e histopatológico en peces tetra neón (*Paracheirodon innesi*) de la Amazonía Peruana. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 26: 469-483.
- Pandey G. y Madhury S. 2014. Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. Resarch journal of animal, veterinary and fishery sciences, 2: 17-23.
- Patwardhan V. y Ghaskadbi S. 2013. Invertebrate alternatives for toxicity testing: *Hydra* stakes its claim. Proceedings of Animal Alternatives in Teaching, Toxicity and Medicine, 2: 69-76.
- Perez F. 2012. Comparación de Cantidades de Metales Pesados en dos campos de Cultivo de la Comarca Lagunera. Tesis para obtener el Título de Ingeniero en Procesos Ambientales. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.
- Ramirez P. y Mendoza A. 2008. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo - La experiencia en México. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales-Instituto Nacional de Ecología. Sermanat, México.
- Rankin M. y Dixon G. 1994. Acute and Chronic Toxicity of Waterborne Arsenite to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Canadian Journal of

- Realidad Minera. 2017. ¿Qué papel juega el arsénico en la industria minera?  
Recuperado en noviembre 2017 de:  
<http://www.miningfacts.org/Ambiente/Que-papel-juega-el-arsenico-en-la-industria-minera/>
- Rosas H. 2001. Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat. Tesis doctoral de la Universidad Politécnica de Catalunya.
- Sanage S., Tibile R. y Singh H. 2008. Neon Tetra, *Paracheirodon innesi*: Breeding and Seed Production. Fishing Chimes, 27: 48-49.
- Sanaye S., Singh H. y Tibile R. 2012. Growth and survival of neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) fry fed mixed zooplankton, formulated feed and combination thereof. Annals of Biological Research, 3: 5665 – 5668.
- Sehgal R. y Saxena A. 1987. Determination of Acute Toxicity Levels of Cadmium and Lead to the Fish *Lebistes reticulatus* (Peters). International Journal of Environmental Studies, 29: 157-161.
- Shafaqat A., Mujahid F., Saima B. y Rehan A. 2014. Effect of different heavy metal pollution on fish. Research Journal of Chemical and Environmental Sciences, 2: 74-79.
- Shanky B. 2013. Ecotoxicology and Impact on Biodiversity. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2: 1-19.
- Shuhaimi-Othman M., Nadzifah Y., Nur-Amalina R. y Umirah N. 2013. Deriving Freshwater Quality Criteria for Copper, Cadmium, Aluminum and Manganese for Protection of Aquatic Life in Malaysia. Chemosphere, 90: 2631-2636.

- Siegert G. 1998, Laboratorio básico de química. Ed. Y Pub. Vicerrectorado Académico UCV, pp 130 – 138.
- Solomon F. 2008. Impacts of metals on aquatic ecosystems and human health. Disponible en:  
<http://www.infomine.com/library/publications/docs/Mining.com/Apr2008c.pdf>
- Spehar R. y Fiandt J. 1986. Acute and chronic effects of water quality criteria-based metal mixtures on three aquatic species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 5: 917-931.
- Sprague J. 1985. Factors that modify toxicity. In *Fundamentals of Aquatic Toxicology* (G. M. Rand and S. R. Petrocelli, Eds.), pp. 124-163. Hemisphere Publishing, Washington, DC.
- Tardiff R. y Goldstein B. 1991. *Methods for assessing exposure of human and non-human biota*. Wiley, USA.
- Tisler T. y Zagorc-Koncan J. 2002. Acute and Chronic Toxicity of Arsenic to Some Aquatic Organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 69: 421-429.
- (USEPA) United States Environmental Protection Agency. 2002. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*.
- USEPA. 1984. *Water quality criteria, request for comments*. *Federal Register*, 49: 4551-4554.
- Vera Manuel. 2012. *Evaluación del Riesgo Ambiental por el uso de tres Productos Químicos de Limpieza Doméstica*. Tesis para optar el Grado de Doctor en Ingeniería Química Ambiental. Universidad Nacional de Trujillo.

- Wang H., Liang Y., Li S. y Chang J. 2013. Acute Toxicity, Respiratory Reaction, and Sensitivity of Three Cyprinid Fish Species Caused by Exposure to Four Heavy Metals. Plos one, 8: 1-7.
- Wikipedia. 2017. Mercurio (elemento). Recuperado en noviembre de 2017 en: [https://es.wikipedia.org/wiki/Mercurio\\_\(elemento\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Mercurio_(elemento))
- Wilson J., Vogl W. y Randall D. 2016. Gill morphology of the neon tetra, Paracheirodon innesi. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/215903333\\_Gill\\_morphology\\_of\\_the\\_neon\\_tetra\\_Paracheirodon\\_innesi](https://www.researchgate.net/publication/215903333_Gill_morphology_of_the_neon_tetra_Paracheirodon_innesi)
- Wright D. y Welbourn P. 2002. Environmental Toxicology. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Yilmaz M., Gul A. y Karakose E. 2004. Investigation of Acute Toxicity and the Effect of Cadmium Chloride ( $CdCl_2 \cdot H_2O$ ) Metal Salt on Behavior of the Guppy (*Poecilia reticulata*). Chemosphere, 56: 375-380.
- Zakaria N., Ahmad A. y Mahazar M. 2016. Acute Toxicity of Mercury to Three Freshwater Organisms Species in Malaysia. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 10: 124-129.





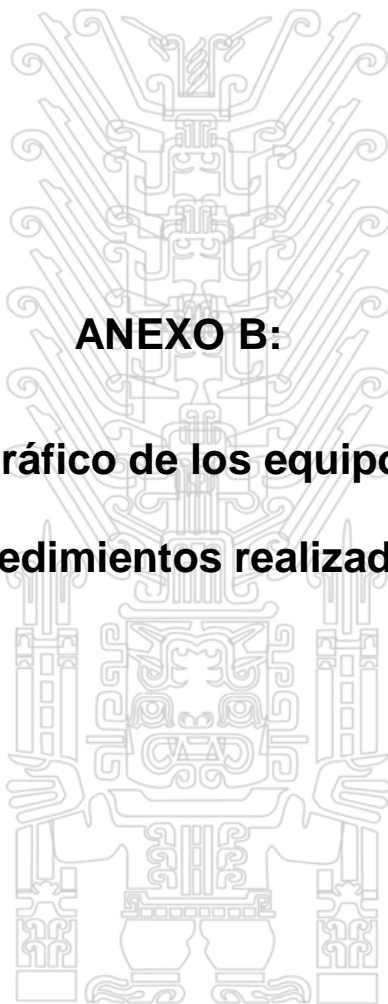
## **ANEXOS**



**ANEXO A:**  
**Matriz de consistencia**

	Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables
<b>General</b>	¿El arsénico, cadmio, mercurio y plomo tendrán efectos tóxicos sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> “neón tetra” (Characidae)?	Evaluar la toxicidad del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez “neón tetra” <i>Paracheiroduon innesi</i> . (Characidae).	El arsénico, cadmio, mercurio y plomo no generan efectos tóxicos sobre el pez “neón tetra” <i>Paracheiroduon innesi</i> .	Independiente: -Concentración de metales. -Peces Dependiente: -Efecto tóxico letal. -Efectos tóxicos subletales.
<b>Específico</b>	¿Estos cuatro metales causan un efecto letal sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> ?  ¿Los cuatro metales producen efectos subletales sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> ?	Determinar concentración letal media a diferentes tiempos de exposición para cuatro metales sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> a través de ensayos toxicológicos.  Obtener la concentración efectiva media para dos efectos subletales a diferentes tiempos de exposición de estos cuatro metales sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> a través de ensayos toxicológicos.	Estos cuatro metales no generan un efecto tóxico letal sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> .  Estos cuatro metales no generan efectos tóxicos subletales sobre <i>Paracheiroduon innesi</i> .	Independiente: -Concentración de metales. -Peces Dependiente: -Efecto tóxico letal. -Efectos tóxicos subletales.

Fuente: Elaboración propia



## **ANEXO B:**

**Registro fotográfico de los equipos y materiales  
empleados y procedimientos realizados en los ensayos**



**Figura 1B: Pecera para aclimatación de peces**



**Figura 2B: Kit de dureza Hanna (HI3812)**



Figura 3B: Medidor portátil de temperatura, conductividad y pH, Hanna (HI98129)

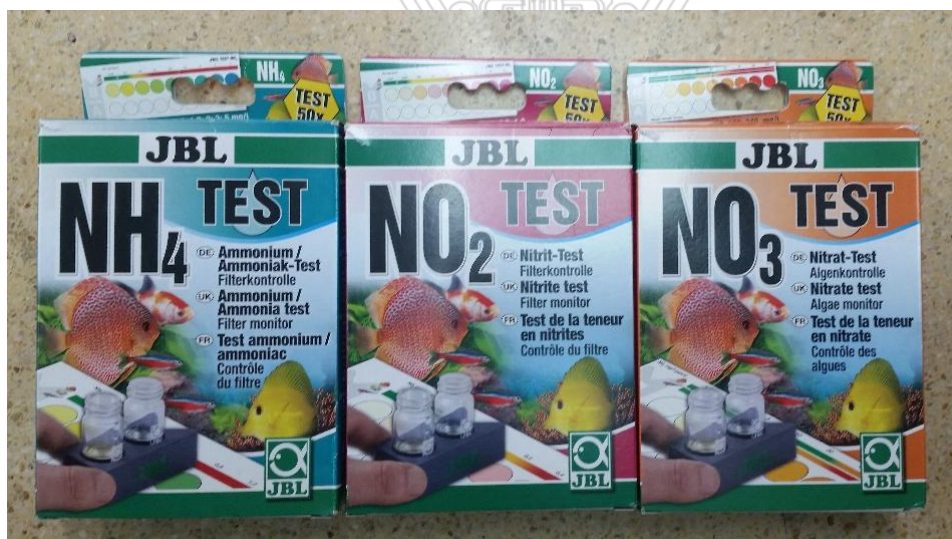


Figura 4B: Kit JBL para la medición de amonio, nitritos y nitratos



**Figura 5B: Balanza AND modelo gr-2000, usada para el pesado de las sales y peces**



**Figura 6B: Vista de ensayo definitivo para cadmio, cinco concentraciones y un blanco, cada uno con cuatro réplicas**



**Figura 7B: Medición de neones con el uso de regla**

## **ANEXO C:**

### **Fichas de Registro de Información**

<b>Ficha de evaluación durante el proceso de aclimatación de los peces</b>			
Especie:		Pecera N°:	
Estadío:		Capacidad total (L):	
Ubicación:		Capacidad usada (L):	
Proyecto:		Otros:	
Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:
Hora:	Hora:	Hora:	Hora:
Evaluador:	Evaluador:	Evaluador:	Evaluador:
Evaluación (h):	Evaluación (h):	Evaluación (h):	Evaluación (h):
Amonio (mg·L <sup>-1</sup> )	Amonio (mg·L <sup>-1</sup> )	Amonio (mg·L <sup>-1</sup> )	Amonio (mg·L <sup>-1</sup> )
Nitrito (mg·L <sup>-1</sup> )	Nitrito (mg·L <sup>-1</sup> )	Nitrito (mg·L <sup>-1</sup> )	Nitrito (mg·L <sup>-1</sup> )
Nitrato (mg·L <sup>-1</sup> )	Nitrato (mg·L <sup>-1</sup> )	Nitrato (mg·L <sup>-1</sup> )	Nitrato (mg·L <sup>-1</sup> )
pH	pH	pH	pH
Temp. (°C)	Temp. (°C)	Temp. (°C)	Temp. (°C)
CE (μS·cm <sup>-1</sup> )	CE (μS·cm <sup>-1</sup> )	CE (μS·cm <sup>-1</sup> )	CE (μS·cm <sup>-1</sup> )
Dureza (mg·L <sup>-1</sup> )	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> )	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> )	Dureza (mg·L <sup>-1</sup> )
N° de peces muertos	N° de peces muertos	N° de peces muertos	N° de peces muertos
Agua cambiada (L)	Agua cambiada (L)	Agua cambiada (L)	Agua cambiada (L)
Tipo de agua empleada	Tipo de agua empleada	Tipo de agua empleada	Tipo de agua empleada

CE = conductividad eléctrica.

Fuente: Elaboración propia

**Figura 1C: Ficha de registro de información para la etapa de aclimatación de los peces en la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

**Ficha para la evaluación de mortalidad en ensayos preliminares de toxicidad**

Especie:

Estadío:

Ubicación:

Proyecto:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Fecha:

Hora:

Hora:

Hora:

Hora:

Evaluador:

Evaluador:

Evaluador:

Evaluador:

Evaluación (h):

Evaluación (h):

Evaluación (h):

Evaluación (h):

**Metal: .....**

**Metal: .....**

Solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	24 h	48 h	72 h	96 h	Solución	Concentración (mg·L <sup>-1</sup> )	24 h	48 h	72 h	96 h
Control						Control					
N° 1						N° 1					
N° 2						N° 2					
N° 3						N° 3					
N° 4						N° 4					
N° 5						N° 5					
N° 6						N° 6					
N° 7						N° 7					
N° 8						N° 8					
N° 9						N° 9					
N° 10						N° 10					

Fuente: Elaboración propia

**Figura 2C: Ficha de registro de información para la etapa de los ensayos preliminares de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

**Ficha para la evaluación de ensayos de toxicidad aguda de 96 horas**

Especie:  
 Estadío:  
 Ubicación:  
 Proyecto:

Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:
Hora:	Hora:	Hora:	Hora:
Evaluador:	Evaluador:	Evaluador:	Evaluador:
Evaluación (h):	Evaluación (h):	Evaluación (h):	Evaluación (h):

<b>Metal:</b>	<b>24 h</b>								<b>48 h</b>																
Solución	Con. (mg·L <sup>-1</sup> )	Réplica A			Réplica B			Réplica C			Réplica D			Réplica A			Réplica B			Réplica C			Réplica D		
		N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.
Control																									
Nº 1																									
Nº 2																									
Nº 3																									
Nº 4																									
Nº 5																									

	<b>72 h</b>								<b>96 h</b>																
Solución	Con. (mg·L <sup>-1</sup> )	Réplica A			Réplica B			Réplica C			Réplica D			Réplica A			Réplica B			Réplica C			Réplica D		
		N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.	N.E.	M.O.	M.
Control																									
Nº 1																									
Nº 2																									
Nº 3																									
Nº 4																									
Nº 5																									

N.E. = nado extraño; M.O. = movimiento opercular; M. = muerte. Con.=concentración.

Fuente: Elaboración propia

**Figura 3C: Ficha de registro de información para la etapa de los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

<b>Ficha para el registro de parámetros fisicoquímicos en ensayos de toxicidad aguda de 96 horas</b>									
Especie:		Fecha:		Fecha:		Fecha:		Fecha:	
Estadio:		Hora:		Hora:		Hora:		Hora:	
Ubicación:		Evaluador:		Evaluador:		Evaluador:		Evaluador:	
Proyecto:		Evaluación (h):		Evaluación (h):		Evaluación (h):		Evaluación (h):	
Solución	Con. (mg·L <sup>-1</sup> )	ARSÉNICO				CADMIO			
		0 h		96 h		0 h		96 h	
		<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>
Control									
Nº 1									
Nº 2									
Nº 3									
Nº 4									
Nº 5									
Solución	Con. (mg·L <sup>-1</sup> )	MERCURIO				PLOMO			
		0 h		96 h		0 h		96 h	
		<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>pH</i>	<i>CE (μS·cm<sup>-1</sup>)</i>
Control									
Nº 1									
Nº 2									
Nº 3									
Nº 4									
Nº 5									

Con. = concentración; CE = conductividad eléctrica.

Fuente: Elaboración propia

**Figura 4C: Ficha de registro de parámetros fisicoquímicos en los ensayos definitivos de la investigación “Toxicidad de los metales: arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neón tetra”**

