

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA**

TESIS SOMETIDA A CONSIDERACIÓN DEL H. CONSEJO DIRECTIVO
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS COMO
REQUISISTO PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE:

INGENIERO ACUICULTOR

**DETERMINACION DE LA TOXICIDAD AGUDA CON
CADMIO EN PECES (*Poecilia reticulata*).**

ROY FRANKLIN AGUIRRE CASTRO

2014

Esta Tesis ha sido aceptada en la forma presente por el Tribunal de grado nominado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, como requisito parcial para optar al grado de:

INGENIERO ACUÍCOLA

Ing. Omar Rogerio Sánchez Romero Mg. Sc.

Director

Ing. César Valarezo Macías Mg. Sc.

Miembro

Ing. Mauricio Yáñez Morocho MBA

Miembro

La responsabilidad de la investigación,
resultados y discusión del presente trabajo, pertenece
exclusivamente al autor.

Roy Franklin Aguirre Castro

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado en primer lugar a Dios Todopoderoso que es quién guía mis pasos, en segundo lugar a mi esposa, hijos y a mis padres por su apoyo incondicional, y me han permitido alcanzar este objetivo tan deseado.

Roy Franklin Aguirre Castro

AGRADECIMIENTO

Expreso mi gratitud a todas las personas que de una u otra forma me ayudaron en mi formación profesional, a mis profesores, compañeros de aula y especialmente a mi Director de Tesis Ing. Omar Sánchez Romero, a los miembros del Tribunal Ing. Mauricio Yáñez M. e Ing. César Valarezo Macías.

Roy Franklin Aguirre Castro



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS DE GRADO Y TRABAJO DE TITULACIÓN

Consigno con el presente escrito la cesión de derechos de Tesis de Grado/Trabajo de Titulación, de conformidad con las siguientes cláusulas:

PRIMERA

Por sus propios derechos y en calidad de Director de Tesis el Ing. Acui. Omar R. Sánchez R., y el tesista Sr. Roy Aguirre Castro, por sus propios derechos, en calidad de Autor de Tesis.

SEGUNDA

El Tesista Sr. Roy Aguirre Castro, realizó la Tesis Titulada: “DETERMINACION DE LA TOXICIDAD AGUDA CON CADMIO EN PECES (Poecilia reticulata)”, para optar al grado de Ingeniero Acuicultor en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, bajo la dirección del Docente Ing. Acui. Omar R. Sánchez R., es política de la Universidad que la Tesis de Grado se aplique y materialice en beneficio de la colectividad.

Los comparecientes: Ing. Acui. Omar R. Sánchez R., como Director de Tesis y el tesista Sr. Roy Aguirre Castro, como autor de la misma, por medio del presente instrumento, tienen a bien ceder en forma gratuita sus derechos de Tesis de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala y conceden autorización para que la Universidad pueda utilizar esta Tesis en su favor/o de la colectividad, sin reserva alguna.

APROBACIÓN

Las partes declaran que reconocen expresamente todo lo estipulado en la presente Cesión de Derechos.

Para constancia suscriben la presente Cesión de Derechos en la ciudad de Machala a los 19 días del mes de Noviembre del año 2014

Ing. Acui. Omar R. Sánchez R.

Sr. Roy Aguirre Castro

DIRECTOR DE TESIS

AUTOR

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Tema	página
1. Introducción	10
2. Revisión de literatura	12
2.1 Bioindicadores de metales pesados.....	12
2.2 El cadmio, su historia.....	13
2.2.1 Abundancia y obtención	13
2.3 Cadmio en el medioambiente	13
2.3.1 Emisiones atmosféricas	14
2.3.2 Contaminación del agua	14
2.3.3 Contaminación de suelos	15
2.4 Cómo se contaminan los alimentos	15
2.4.1 Aire alimentos	15
2.4.2 Agua alimentos	16
2.4.3 Suelo vegetales	16
2.4.4 Suelo plantas animales alimento	16
2.4.5 Tecnología alimentaria	17
2.5 Valores de cadmio	17
2.6 Alimentos del mar que contienen cadmio.....	18
3. Materiales y métodos	20
3.1 Materiales.....	20
3.2 Métodos	21
3.2.1 Variables de estudio.....	21
3.2.2 Determinación del límite de tolerancia medio (It ^m).....	22
3.2.3 Selección de peces	22
3.2.4 Diseño experimental y concentraciones (por fases)	22
3.2.5 Análisis estadístico	23
4. Resultados y discusión	24
4.2 Estimación de resultados – primera fase.....	24
4.3 Concentraciones y siembra (segunda fase).....	25

4.3.1	Resultados – segunda fase	25
4.3.2	Evaluación	¡Error! Marcador no definido.
5.	Conclusiones	29
6.	Resumen	31
7.	Summary	32
8.	Bibliografía citada	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Pág.
1. Distribución de soluciones de cadmio en acuarios (Primera fase)	23
2. Acuario en donde se determinó el LT^m (Prueba 1 - Primera fase)	24
3. Datos de parámetros en acuarios (Prueba 1 - Primera fase)	24
4. Distribución de soluciones de cadmio en acuarios (Segunda fase)	25
5. Peces muertos por acuario en donde se determinó el LT^m a las 36 horas	25
6. Datos de parámetros en acuarios (T° y pH)	26
7. ESTIMACIONES DE LOS PARÁMETROS (software SPSS y su opción PROBIT)	26
8. Covarianzas y correlaciones de estimaciones de los parámetros	26
9. LÍMITES DE CONFIANZA	27
10. RESIDUOS Y FRECUENCIAS DE CASILLAS	28

1. INTRODUCCIÓN

En el análisis de las aguas continentales y oceánicas no se puede disgregar el binomio agua-desarrollo, pues el uso de las aguas es un elemento obligado en el desarrollo de los pueblos. El uso del agua ha estado creciendo en forma exponencial con los consecuentes problemas de contaminación, la misma que tiene diferentes connotaciones, una de ellas es provocada por la descarga de materiales hacia los cuerpos de agua, sufriendo efectos adversos en la calidad de vida animal y vegetal presente en el mismo. Por otra parte, el entendimiento del origen de los contaminantes, su tratamiento y su efecto en los ecosistemas acuáticos, es, hoy en día, una parte importante de la interpretación de la ecología acuática.

Las acciones de los seres humanos afectan ostensiblemente a un sinnúmero de ecosistemas acuáticos, modificando con ello la evolución natural de los mismos en diferentes escalas. El hombre en su incansable deseo de superación por todas las vías, también ha provocado daños en algunos casos irreparables al medio, esto ocurre desde el proceso químico de la manufactura de las sustancias utilizadas en su carrera por superarse y en donde se generan residuos considerados agentes químicos tóxicos, los cuales si no tienen un manejo adecuado pueden constituirse en un riesgo para el ambiente y la salud humana y además con la consecuente afectación de la integridad de los atributos ecológicos de los sistemas naturales acuáticos y terrestres. En la actualidad se han desarrollado diversas técnicas para evaluar los efectos que traen consigo las variadas actividades antropogénicas que presentan un impacto probable en la salud humana y en el ecosistema.

Entre los diferentes instrumentos de evaluación están la metodología del análisis de riesgo ecológico y ambiental y junto con ellas, el uso de indicadores biológicos para monitorear la salud o la integridad de los ecosistemas acuáticos, con esto se lograría establecer la relación que existe entre la contaminación del agua, especialmente en los ecosistemas acuáticos, que aún conservan sus características naturales pero que han sido afectados por la presencia de sustancias químicas (provenientes de la industria minera, por partes de bienes industriales

como baterías recargables de níquel-cadmio, fertilizantes, pigmentos y estabilizadores en plástico y tubos PVC y en pinturas, así como catalizadores y conservadores en la industria del plástico, aleaciones y cigarrillos) y la respuesta de los diferentes componentes biológicos de las comunidades acuáticas, considerando, de manera primordial, el énfasis en las rutas y los efectos negativos en la integridad de las diferentes formas de vida. La evaluación de la calidad del ambiente, en particular de las comunidades acuáticas, ha sido por tradición, desarrollada con base en métodos soportados por mediciones y determinaciones de las características físicas y químicas del agua. Cuando se trata de estimar o determinar la calidad ambiental en general, son aplicados los procedimientos físico-químicos clásicos para denotar el grado de calidad o afectación del parámetro estudiado. Un ejemplo es la calidad del agua para consumo humano, la cual puede considerarse, en el caso de metales pesados, la concentración de los mismos para definir si es “buena o mala”. Sin embargo, la inclusión de la respuesta de los organismos en distintas escalas, desde biomarcadores hasta comunidades, es ahora una alternativa y un complemento en la evaluación de la calidad del ambiente. Una de las premisas más importantes de la bioevaluación o biomonitoreo es la de que los esquemas físico-químicos no son capaces de detectar los daños en las comunidades biológicas. La bioevaluación o biomonitoreo puede revelar impactos o efectos futuros y presentes que están enmascarados, tales como nuevas sustancias tóxicas que han ingresado al ambiente o posibles cambios en las propiedades físicas. Otra ventaja es que pueden ser estudiados los cambios o alteraciones a largo plazo sobre el ecosistema.

Por estas razones es importante incorporar, a los métodos de evaluación de la calidad ambiental y de la integridad de los ecosistemas, mecanismos como los indicadores biológicos que complementen a los métodos tradicionales, es así que para el presente trabajo de titulación se propone utilizar al pez *Poecilia reticulata* como indicador biológico y así determinar las concentraciones letales para el mismo. Por las razones expuestas se plantean los siguientes objetivos:

OBJETIVOS:

1. Determinar el Límite de Tolerancia medio (LT^m) en *Poecilia reticulata*, utilizando diferentes concentraciones de cadmio.
2. Evaluar la sensibilidad producida por el efecto tóxico del cadmio en los ejemplares de *Poecilia reticulata*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 BIOINDICADORES DE METALES PESADOS

La eco-toxicología ha ampliado su campo de estudio para involucrar no sólo la determinación de la relación dosis-respuesta de sustancias peligrosas a nivel de individuo, sino también los efectos a nivel de poblaciones y comunidades (Munkittrick y McCarty, 1995).

En estudios de eco-toxicología, para determinar la contaminación por metales pesados, se han empleados ciertos invertebrados como bio-indicadores, lográndose determinar que las concentraciones de metal en estos seres son directamente proporcionales a los niveles medioambientales. Entre estos animales, los bivalvos y otros moluscos parecen ser los adecuados indicadores de estos agentes tóxicos en los ecosistemas acuáticos, siendo empleados con frecuencia distintas especies de lapas, debido a que constituyen una especie ampliamente distribuida y concentran activamente metales. (M. Pérez-López et al., 2002)

En varios estudios realizados para determinar la toxicidad del cadmio incluyeron a varias especies y aspectos como: nivel de concentración en hígado, sistema esquelético y branquias (Hinton & Laurén, 1990; Playle et al. 1993; Andersson & Holm, 1995), sobre efectos de mortalidad, aumento en la frecuencia de los macrófagos, mecanismos de detoxificación y cambios a nivel de los fenómenos reproductivos (Tafanelli & Summerfelt, 1975; Ribelin & Migaki, 1975; Oronsaye & Brafield 1984;. Lloyd, 1992; Glynn et al., 1992; Cuvín-Aralar & Aralar, 1993).

Por otro lado, según manifiestan Argota G. et al (2012), en la actualidad una de las mayores dificultades en la ecotoxicología acuática de campo utilizando organismos bioindicadores como los peces, es precisamente que diversos patrones como los ecológicos, morfológicos, fisiológicos y bioquímicos entre otros, se encuentran limitados a su comparación, por la falta de estudios de referencias en condiciones mínimas de contaminación incluyendo en muchas ocasiones a las mismas especies. El objetivo de su trabajo fue establecer niveles de referencia en cuanto a la histología y niveles de metales pesados en hígado, branquias y cerebro de la especie *Gambusia punctata* que habita en el río Filé de Santiago de Cuba.

2.2 EL CADMIO, SU HISTORIA

El cadmio (en latín, *cadmia*, y en griego *kadmeia*, que significa "calamina", el nombre que recibía antiguamente el carbonato de zinc) fue descubierto en Alemania en 1817 por Friedrich Stromeyer, quien observó que algunas muestras de calamina con impurezas cambiaban de color cuando se calentaban, mientras que la calamina pura no lo hacía; encontró el nuevo elemento como impureza en este compuesto de zinc. Durante unos cien años Alemania fue el principal productor de este metal. (<http://es.wikipedia.org/wiki/Cadmio>)

2.2.1 ABUNDANCIA Y OBTENCIÓN

Los metales pesados constituyen los mayores contaminantes químicos tanto en países desarrollados como subdesarrollados. Disueltos en las aguas, producen en los peces sofocamiento debido a los precipitados o coagulados de mucoproteínas sobre el epitelio branquial constituyendo un bloqueo del intercambio de gases y de la excreción de productos de desecho (Jones, 1971).

Es un elemento escaso en la corteza terrestre. Las minas de cadmio son difíciles de encontrar, y suelen estar en pequeñas cantidades. Suele sustituir al zinc en sus minerales debido a su parecido químico. Se obtiene generalmente como subproducto; el cadmio se separa del zinc precipitándolo con sulfatos o mediante destilación. Generalmente el zinc y el cadmio están en sus minerales como sulfuros, al tostarlos se obtiene una mezcla de óxidos y sulfatos, y el cadmio se separa aprovechando la mayor facilidad para reducirlo.

El mineral más importante de zinc es la esfalerita, $(\text{Zn}, \text{Fe})\text{S}$, siendo el mineral análogo de cadmio la greenockita, CdS . Además de obtenerse de la minería y metalurgia de sulfuros de zinc, también se obtiene, en menor medida, de los de plomo y cobre. Existen otras fuentes secundarias: del reciclado de chatarra de hierro y acero se obtiene aproximadamente el 10% del cadmio consumido. (<http://es.wikipedia.org/wiki/Cadmio>)

2.3 CADMIO EN EL MEDIOAMBIENTE

Podemos hallar Cadmio en la Atmósfera, en el agua y en el suelo. Cómo llega el metal a cada medio es lo que a continuación se describe. El Cadmio es un metal cuyo uso es bastante nuevo. Antes de la II guerra Mundial prácticamente no había demanda, y se asociaba a una impureza de Zinc y Plomo, con lo que era desechado, produciendo grandes áreas de

contaminación alrededor de la industria del Zinc y Plomo. Actualmente se sigue relacionando la contaminación por Cadmio con este tipo de industria, es donde se producen mayores emisiones al medio ambiente, pero también se producen emisiones de Cadmio en la combustión de basuras, combustión de carbón, industria del acero, producción de cementos... aunque en mucha menor cantidad. La emisión de metales pesados al medio ambiente puede producir daños a nivel global, regional o local. En el caso del Cadmio, se ha visto que la relación de contaminación es de regional a local.

2.3.1 EMISIONES ATMOSFÉRICAS

La mayoría de las emisiones a nivel atmosférico se realizan a través de la industria del metal, seguido por la combustión de residuos o basuras, combustión de carbón, industria cementera y producción de fertilizantes. Si comparamos la emisión de Cadmio a partir de fuentes naturales con la realizada por procesos humanos, vemos que, por ejemplo, en 1986 fueron 960 toneladas frente a 7570 toneladas respectivamente, lo que representa que el 90% del flujo anual de Cadmio es de origen humano. La concentración de Cadmio es elevada alrededor de minas y zonas industriales, así como en zonas urbanas, concentración que disminuye a medida que uno se aleja de éstas zonas, siendo menor, por ejemplo, en áreas rurales. Así y todo, el aire es un medio que permite el transporte de Cadmio a la cadena alimentaria de zonas muy alejadas de la civilización. Por ejemplo, se han realizado estudios de niveles ambientales de Cadmio en el Ártico, que han resultado ser muy similares a los niveles ambientales de ciertas zonas rurales de los Estados Unidos.

2.3.2 CONTAMINACIÓN DEL AGUA

El Cadmio que llega al agua procede principalmente de vertidos industriales, así como vertidos urbanos. La contaminación depende también de la cercanía de superficies acuáticas cercanas a zonas urbanas, ya que no será igual la cantidad de Cadmio que pueda llegar a un río cercano a una zona industrial que en alta montaña. Sin embargo, parte del Cadmio atmosférico acaba siendo depositado en la superficie del agua, y representa el 23% del Cadmio contaminante que llega al agua, es decir, es la vía principal de entrada de cadmio en agua. El 3-12-1997 la Comisión Europea establece los valores límite de emisiones mensuales permitidos por la industria, garantizando también la no transferencia de contaminación del aire al agua, los valores permitidos en agua para compuestos de Cadmio serán 0.02 mg/L (promedio mensual).

2.3.3 CONTAMINACIÓN DE SUELOS

La mayor parte de Cadmio vertido por el hombre va a parar al suelo. Al igual que en el agua, la vía principal de deposición es la atmosférica (23% del total), seguido de vertidos urbanos, uso de barros industriales como fertilizantes para mejorar las características minerales de los suelos, o uso de fertilizantes, como derivados de fosfato impuros. Se considera la concentración de Cadmio en suelos entre 0.3–0.6 mcg/g, y se piensa que esta concentración se doblará cada 50–80 años, contando los índices de emisión de origen humano. Actualmente, en la mayoría de suelos urbanos, es raro encontrar concentraciones inferiores a 1.0 mcg/g. Incluso se han hallado zonas en Japón tan contaminadas que no pueden usarse ni para cultivar arroz. En Europa la mayoría de suelos contaminados lo han sido por el uso de fertilizantes y lodos industriales más que por la industria en sí. El problema que se plantea actualmente es cómo conseguir descontaminar estos suelos.

2.4 CÓMO SE CONTAMINAN LOS ALIMENTOS

El acúmulo de Cadmio presenta, mayoritariamente, un origen alimentario. Además, de todos los metales tóxicos emitidos al medio ambiente, éste es uno de los que más tienden a acumularse en los alimentos. Una característica del Cadmio es su fácil transferencia del suelo a los vegetales, siendo uno de los metales que mejor absorben las plantas, sobretodo cereales como el arroz, el trigo y, en menor cantidad el maíz. A nivel de contaminación por agua, son los moluscos bivalvos, crustáceos y peces los que presentan mayor incidencia de contaminación.

2.4.1 AIRE ALIMENTOS

La forma de transferencia del cadmio atmosférico a los alimentos es la deposición de éste sobre las frutas y vegetales. La retención de Cadmio en la superficie de los vegetales dependerá de factores como la velocidad de deposición, el tamaño de partícula, factores climáticos y características de las hojas. Se ha visto que lavar los vegetales antes de su uso reduce significativamente los valores de Cadmio, lo que corrobora la idea del depósito de Cadmio atmosférico.

2.4.2 AGUA ALIMENTOS

La concentración de Cadmio en el agua de bebida suele ser del orden de 2 mcg/lit, lo que quiere decir que no es una vía importante de exposición. El Cadmio contenido en el agua puede pasar a los recursos alimenticios acuáticos, y de aquí llegarán a la cadena de alimentación. La mayoría de la fauna y flora acuáticas pueden acumular Cadmio en cantidades superiores a los niveles que pueda haber en el agua. Si miramos la cadena trófica, el primer nivel, el de las plantas acuáticas, será el que posea mayor poder de acumulación del metal. Tendríamos después los moluscos y crustáceos, que también tienden a bioacumular cadmio. Por ello ciertos tipos de dietas basadas en el uso de algas marinas pueden acabar produciendo toxicidad al individuo, así como en el caso de pueblos pescadores, cuya dieta está basada en pescado y otros productos de origen acuático.

2.4.3 SUELO - VEGETALES

Se ha relacionado la concentración de Cadmio en los vegetales con la concentración del metal en el suelo, además se ha constatado que estos niveles han ido aumentando a lo largo de los últimos años, incluso en zonas naturales no industrializadas ni urbanizadas. La acumulación se produce de forma continua, no existiendo ningún tipo de umbral, como ocurre con otros metales, por ejemplo, el plomo, y esto ocurre a concentraciones tan bajas de sólo 0.3 ppm en el suelo. Todos los alimentos de origen vegetal sufren una contaminación débil, pero sistemática, que corresponde a unos niveles que van de 5 ppb hasta 100 ppb como máximo. De forma puntual será despreciable, pero cuando se compara con valores diarios se llega a niveles bastante elevados en algunos casos. Una disminución del Ph del suelo facilita la transferencia del Cadmio al vegetal, por ello es importante, en zonas industrializadas, el fenómeno de la lluvia ácida, ya que ésta hace disminuir el Ph del suelo, aumentándola absorción por parte de las plantas y, por tanto, la acumulación. Se ha visto que el aumento puede llegar a ser de 2 a 20 veces superior que en zonas con suelos no contaminados o Ph más elevados.

2.4.4 SUELO – PLANTAS – ANIMALES - ALIMENTO

En los últimos años se han realizado estudios sobre el contenido en Cadmio en los desperdicios animales, y se ha visto que han ido aumentando a medida que aumentaban las concentraciones de Cadmio en el medio ambiente, suelos, vegetales, semillas..., lo que indica que se están viendo expuestos a niveles cada vez más elevados de contaminante. Sin embargo

aún no está claro que los niveles que acumulan puedan llegar a crear un problema de salud en el hombre. Los productos animales más frecuentes en la dieta humana son huevos, leche, músculo y carne roja, y éstos son, precisamente, productos conocidos por tener niveles particularmente bajos en Cadmio. Todos estos productos nos darían tan sólo un 10% de la ingesta diaria total estimada en la población adulta de USA. Este valor tan bajo viene dado porque, en general, el hígado y riñones de los animales actúan como filtros, donde tiene el Cadmio, con lo que no llega a acumularse en otras zonas. Diferente es, sin embargo, el consumo de vísceras, sobre todo de riñones e hígado, ya que es donde tiende a acumularse.

2.4.5 TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

También la tecnología alimentaria puede contaminar los productos en la cadena de manipulación y tratamiento de los alimentos, sobre todo en el caso de embalajes. No es muy frecuente que ocurra en el caso de conservas, pero cuando el envase es cerámico sí que puede liberarse cadmio, ya que muchos esmaltes cerámicos coloreados pueden liberar, en contacto con el alimento, sobre todo si éste es ácido, cantidades no despreciables de cadmio. Un ejemplo, se han realizado estudios para cuantificar la liberación de cadmio por las vajillas, colocando las piezas 24 horas en contacto con una solución de ácido acético al 4%, y se vio que el límite establecido por la OMS de 0.5 mg/l se superaba en el 36% de los casos en platos barnizados y esmaltados, en un 22% en platos para niños, y en un 13% en platos de vidrio templado. También puede ocurrir con envases plásticos, ya que algunos tipos de plásticos son estabilizados con estearato de Cadmio, sin embargo, estudios realizados con recipientes plásticos estabilizados con estearato de Cadmio, y coloreados con pigmentos que contienen cadmio no han dado resultados apreciables de liberación del metal, se han obtenido valores de mcg/l, y normalmente inferiores a 30 mcg/l (lejos de los 0.5 mg/l permitidos por la UE). Se debe tener en cuenta también la acción de la luz, ya que en el caso de pigmentos con cadmio, la luz favorece la degradación de estos pigmentos, posibilitando la migración del cadmio al alimento. (Comunicado de Prensa de la Comisión Europea para el Medio Ambiente del 27 de Noviembre de 1997)

2.5 VALORES DE CADMIO

En 1972 la FAO/OMS fijan como valor de Cadmio que puede ingerirse semanalmente por un adulto 400–500 mcg. Se considera una dosis mortal la de 100 mcg/dl. La cantidad en agua de bebida debe ser, según la OMS inferior a 5 mcg/l. Este valor se contempla en nuestra

legislación en el RD 1138/1990, y se ratifica en una nueva propuesta Directiva en el 2000. La FDA limita la concentración en colorantes alimentarios a 15 ppm. La OSHA (Occupational Safety and Health Administration) limita a 100 mcg/m³ de cadmio en lugares de trabajo y se recomienda que los trabajadores respiren la menor cantidad de cadmio posible. La dosis fijada por la OMS de 400 mcg/semanales es muy baja, y esto indica el carácter acumulativo que presenta el Cadmio, por ejemplo, en un neonato, la cantidad total de Cadmio en el organismo es de 1 mcg, pero en la edad adulta podemos acumular 30–40 mcg, sin llegar a aparecer manifestaciones de toxicidad.

2.6 ALIMENTOS DEL MAR QUE CONTIENEN CADMIO

(Organización mundial de la salud; www.who.int/es/) En aguas contaminadas, los crustáceos suelen tener una media de 2–10 mcg/g de Cadmio, sobre todo concentrado en riñón e hígado. Por ello, es importante tener en cuenta el tipo de dieta, por ejemplo un pueblo pescador, con dieta básicamente de pescado. Considerando que la concentración de Cadmio en moluscos y crustáceos es de 0.05–0.1 mcg/g, la ingesta total diaria puede llegar a ser de 42–69 mcg/día, cuando los valores de ingesta en una ciudad media serían de unos 14 mcg /día . Dentro de este grupo, los mejillones, las ostras y gran número de bivalvos contienen entre 0.5 y 1.5 ppm de Cadmio. Los cangrejos son los que parecen retener más cadmio, sobretodo en la parte de vísceras, donde pueden llegar a acumular hasta 10 ppm, mientras en el resto de la carne no suele sobrepasar las 0.3 ppm. En el caso del pescado, los valores suelen ser muy bajos, del orden de 0.2 ppm. Los alimentos de origen animal serían los menos contaminados por Cadmio, suelen tener unas concentraciones de algunas decenas de ppb en relación al peso fresco. Sin embargo, hay una excepción, los despojos o vísceras animales, sobretodo hígado y riñón. Por el metabolismo del Cadmio, éste tiende a acumularse en estos dos órganos, sobretodo en forma combinada con metalotioneína, lo que favorece posteriormente la absorción intestinal en el hombre, aumentando el riesgo de toxicidad. En Francia, por ejemplo, podemos encontrar en el Inventario Nacional de Calidad una relación de los alimentos que contienen mayor proporción de Cadmio, y hallamos mayores concentraciones en alimentos como despojos (riñones, hígados), en algunas aves (pato, pavo...), en el conejo, diversas verduras frescas (lechuga), o en conserva (espinacas, judías verdes...), atún enlatado, huevos, algunos quesos (quesos cocidos, sobretodo) y algunos productos de panadería y bollería (biscotes, croissants, pan completo), productos que derivan en su mayoría de cereales. Así como se han estudiado bien los alimentos, no pasa igual con las bebidas, se conoce que el

vino, la cerveza y la sidra contienen proporciones muy bajas, pero no se han realizado suficientes estudios. Sí se conoce el hecho de el agua puede contaminarse por el sistema de distribución, ya que muchas tuberías se realizan con hierro galvanizado, esto se logra con aleación con Zinc, muchas veces impuro, y la impureza que lleva el Zinc suele ser Cadmio, con lo que parte será cedido al agua de las tuberías. Una vez conocemos los valores de Cadmio contenidos en los diferentes tipos de alimentos, nos interesa conocer cuáles serán los valores de aporte diario de este metal debido a los alimentos. Los valores varían dependiendo de la zona estudiada, por ello, los valores establecidos por diferentes países, difieren significativamente. Tendríamos, como valores más bajos, los establecidos por el Reino Unido, para un consumo medio diario de 1,5 Kg. de alimentos, el aporte de cadmio sería de 15 a 30 mcg. valor similar también hay en Suecia, sin embargo, países como Japón, Estados Unidos y Canadá prevén un intervalo más amplio, entre 15 y 70 mcg /día. A pesar de estas diferencias, ninguno de los valores es preocupante, ya que se cumplen los límites establecidos por la OMS de 400–500 mcg semanales permitidos. Sin embargo, debido al aumento de la producción del metal, que se supone se dobla cada 10 años, y que provoca una duplicación de la concentración en la cadena alimentaria cada 20 años, y que el período de acumulación sea tan largo, hace que actualmente se esté intentando comprobar si se llega al umbral de 200 ppm (nivel crítico) a nivel de córtex renal. Pero estos estudios aparecerán en los próximos años, actualmente se están comenzando a realizar. En otras ocasiones las exposiciones a pequeñas cantidades de una sustancia puede proteger el organismo contra efectos letales de una sola dosis grande, por ejemplo, la exposición repetida a dosis pequeñas de compuestos de cadmio puede proteger a la persona contra dosis que pudieran ser letales para un organismo que previamente no hubiera estado expuesto al cadmio.(<http://www.who.int/es/>)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1. LOCALIZACION DEL ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Ecología y Bioensayos de la escuela de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala.

3.1.2. UBICACIÓN GEOGRÁFICA

El sitio de estudio se encuentra en las siguientes coordenadas:

Geográficas	UTM
Longitud : 79° 54' 05'' W	1796388663965 UTm
Latitud : 03° 17' 16'' S	6166612595 UTm
Altitud : 11 m snm	

3.1.3. MUESTRAS

Para la realización del presente trabajo se utilizó 400 ejemplares de *Poecilia reticulata*, colocando 10 peces por acuario de 2lts. de capacidad (40 acuarios).

3.1.4. EQUIPOS UTILIZADOS

3.1.4.1. Materiales y Equipos de Laboratorio

Materiales

- ✓ Acuarios de 2 000 ml.
- ✓ Agua dulce filtrada para los acuarios, Agua destilada.
- ✓ Recipientes plásticos.
- ✓ Erlenmeyer de 100, 200 y 500 ml.
- ✓ Ejemplares de *Poecilia reticulata* (400 + 10%).
- ✓ Pipetas.

- ✓ Tanque (0,5 m³).

Equipos:

- ✓ Termómetro y potenciómetro.
- ✓ Microscopio.
- ✓ Balanza de precisión.
- ✓ Cámara fotográfica, calculadora.

Reactivos:

- ✓ Solución buffer.
- ✓ Cadmio.

Insumos:

- ✓ Hojas de control y libretas de apuntes.
- ✓ Guantes.
- ✓ Marcadores
- ✓ Papel aluminio.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 VARIABLES DE ESTUDIO

- ✓ Concentración de cadmio (variable independiente).
- ✓ Mortalidad (variable dependiente).

3.2.1.1 Medición de las variables

- ✓ **Concentración de cadmio.**- Para medir esta variable se basará en la distribución de las soluciones de cadmio.
- ✓ **Mortalidad.**- Esta variable será medida tomando como referencia el número de ejemplares de *Poecilia reticulata* muertos por acuario, al final del trabajo.

3.2.2 DETERMINACIÓN DEL LÍMITE DE TOLERANCIA MEDIO (LT^m)

Para la determinación del Límite de Tolerancia Medio se llevó un registro de la sobrevivencia de los peces en función de las concentraciones superiores e inferiores al LT^m, y luego se estimó la misma por interpolación.

3.2.3 SELECCIÓN DE PECES

Para el presente trabajo se seleccionaron peces machos de *Poecilia reticulata*, tratando de que exista uniformidad en su edad y talla (aprox. 3,5 cm). Los peces fueron obtenidos de una empresa productora de peces ornamentales, éstos fueron transportados en fundas plásticas con 5 L de agua saturada de oxígeno, una vez en el lugar del ensayo estos fueron sometidos a un periodo de aclimatación por 3 horas y se alimentaron 2 veces al día con un alimento comercial.

Antes del inicio de la prueba, se suspendió la alimentación con el fin de evitar interferencia de esta en los resultados. (APHA, 1976)

3.2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y CONCENTRACIONES (Por fases)

El diseño experimental comprendió de 10 tratamientos (9 concentraciones más 1 control), se realizaron del mismo tres pruebas de ensayo y una definitiva (Primera fase); con esta información y luego de determinar el límite de tolerancia medio LT^m que se registró con la concentración de 0,70 mg/lt de Cd en esta primera fase, a partir de esta concentración se prepararon 10 concentraciones más, teniendo como punto medio la concentración de 0,70 mg/lt de la primera fase, la relación dosis-respuesta se obtuvo a partir de la información que se logró analizando la concentración de cadmio como variable independiente, y número de peces muertos como variable dependiente.

3.2.4.1 Concentraciones – Primera fase

En la primera fase de la prueba se dosificó el acetato de cadmio C₄H₆CdO₄ (1 ml = 1 mg de cadmio), en diez diferentes concentraciones en cada uno de los acuarios. En cada acuario se colocaron 10 peces. Los animales no recibieron ningún tipo de alimento durante la realización de la prueba, las observaciones finales de animales sobrevivientes se las efectuaron a las 18, 36, 72 y 96 horas.

Cuadro 1. Distribución de soluciones de cadmio en acuarios (Primera fase).

No ACUARIOS	SOL. DE ACETATO DE CADMIO
Acuario 1	0,00mg/lit Cd
Acuario 2	0,20mg/lit Cd
Acuario 3	0,30mg/lit Cd
Acuario 4	0,40mg/lit Cd
Acuario 5	0,50mg/lit Cd
Acuario 6	0,60mg/lit Cd
Acuario 7	0,70mg/lit Cd
Acuario 8	0,80mg/lit Cd
Acuario 9	0,90mg/lit Cd
Acuario 10	1,00mg/lit Cd

3.2.4.2 Concentraciones – Segunda Fase

Para la segunda fase se dosificó a partir de la concentración en la cual murieron el 50% de los peces de la primera fase, esta fue con 0,70 mg/lit de cadmio, y a las 36 horas. A partir de esta información se originaron 10 concentraciones más.

3.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico para determinar el Límite de Tolerancia Medio (LTm) se lo realizó utilizando el software SPSS y su opción PROBIT (Weber, 1993), que estimó la concentración de cadmio que produjo la letalidad del 50% de los peces expuestos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ESTIMACIÓN DE RESULTADOS – PRIMERA FASE

Se procedió a la determinación del Límite de Tolerancia Medio (LT^m) en *Poecilia reticulata* frente a la presencia de cadmio en el agua (acetato de cadmio), el LT^m se lo obtuvo mediante la estimación de la mortalidad en función del tiempo (Prieto *et al.*, 1998), en los acuarios no se utilizó oxigenación por los requerimientos mínimos de los peces. Se mantuvo la luminosidad natural, 12 h luz y 12 h de oscuridad durante el experimento. Cada seis horas se monitorearon parámetros como temperatura y pH. A partir de transcurridas 30 horas ya se notó un nado errático en los peces del acuario No 7, y luego de transcurridas 36 horas se habían muerto el 50% de los peces del acuario.

Cuadro 2. Acuario en donde se determinó el LT^m (Prueba 1 - Primera fase)

No ACUARIO	SOL. DE ACETATO DE CADMIO	NÚMERO DE PECES MUERTOS			
		18 H	36 H	72 H	96H
Acuario 7	0,70mg/lit Cd	2	5	7	9

Cuadro 3. Datos de parámetros en acuarios (Prueba 1 - Primera fase)

No ACU.	Temperatura º	pH. º
Acuario 1	24,0º	7,0
Acuario 2	24,5º	6,5
Acuario 3	24,0º	7,0
Acuario 4	25,0º	7,0
Acuario 5	23,0º	7,0
Acuario 6	25,0º	6,5
Acuario 7	25,0º	7,5
Acuario 8	25,0º	7,0
Acuario 9	25,0º	7,0
Acuario 10	24,0º	6,5

4.2 CONCENTRACIONES Y SIEMBRA (Segunda fase)

Para esta fase, luego de la primera prueba, una vez que en el acuario No 7 se produjo el LT^m a partir de las 36 horas de estar sometidos al tratamiento, en función de esta concentración se procedió a preparar 10 acuarios más, con las concentraciones derivadas de la señalada (0,70 mg/lit), y con el mismo número de peces por acuario.

Cuadro 4. Distribución de soluciones de cadmio en acuarios (Segunda fase)

No ACUARIOS	SOL. DE ACETATO DE CADMIO
Acuario 1	0,66mg/lit Cd
Acuario 2	0,67mg/lit Cd
Acuario 3	0,68mg/lit Cd
Acuario 4	0,69mg/lit Cd
Acuario 5	0,70mg/lit Cd
Acuario 6	0,71mg/lit Cd
Acuario 7	0,72mg/lit Cd
Acuario 8	0,73mg/lit Cd
Acuario 9	0,74mg/lit Cd
Acuario 10	0,75mg/lit Cd

4.2.1 RESULTADOS – SEGUNDA FASE

Cuadro 5. Peces muertos por acuario en donde se determinó el LT^m a las 36 horas

No ACUARIO	SOL. DE ACETATO DE CADMIO	PECES MUERTOS(36h)
Acuario 1	0,66mg/lit Cd	1
Acuario 2	0,67mg/lit Cd	3
Acuario 3	0,68mg/lit Cd	3
Acuario 4	0,69mg/lit Cd	4
Acuario 5	0,70mg/lit Cd	4
Acuario 6	0,71mg/lit Cd	5
Acuario 7	0,72mg/lit Cd	5
Acuario 8	0,73mg/lit Cd	6
Acuario 9	0,74mg/lit Cd	8
Acuario 10	0,75mg/lit Cd	9

Cuadro 6. Datos de parámetros en acuarios (T° y pH)

No ACU.	Temperatura \bar{X}	pH. \bar{X}	No ACU.	Temperatura \bar{X}	pH. \bar{X}
Acuario 1	24,0°	7	Acuario 6	24,0°	6,5
Acuario 2	24,0°	7	Acuario 7	24,0°	7,5
Acuario 3	24,0°	7	Acuario 8	24,0°	7,0
Acuario 4	25,5°	7	Acuario 9	24,0°	6,5
Acuario 5	23,0°	7	Acuario 10	24,5°	7,0

4.2.1.1 Estimación de resultados – Segunda fase

Es de resaltar que para la prueba o segunda fase se procedió exactamente igual que en la primera fase, en los acuarios no se utilizó oxigenación, se mantuvo la luminosidad natural, 12h luz y 12h de oscuridad durante el experimento, cada seis horas se monitorearon los parámetros como temperatura y pH; además para las estimaciones utilizando el software SPSS se utilizó la información obtenida en la segunda fase.

ESTIMACIONES DE LOS PARÁMETROS (software SPSS y su opción PROBIT)

Parámetro	Estimación	Error típico	Z	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a DOSIS	46,440	33,463	1,388	,165	-19,146	112,026
Intersección	6,666	4,303	1,549	,121	2,363	10,969

- a. Modelo PROBIT: $PROBIT(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo en base 10,000.)

ECUACIÓN

$$Y = \text{Log}(6,666) + \text{Log}(46,440) X$$

$$Y = 0,276 + (0,629) 0,5$$

$$Y = 0,5905$$

Covarianzas y correlaciones de estimaciones de los parámetros

		DOSIS	Respuesta natural
PROBIT	DOSIS	1119,758	,923
	Respuesta natural	8,471	,075

La Respuesta Natural es la probabilidad de que un pez muera por causa natural (no por culpa de la variable independiente). Como su valor es mayor que 0, se deduce que no todos los peces mueren por culpa de la variable independiente.

LÍMITES DE CONFIANZA

	Probabilidad	Límites de confianza al 95% para DOSIS			Límites de confianza al 95% para log(DOSIS) ^a		
		Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
P	,010	,640	.	.	-,194	.	.
R	,020	,649	.	.	-,188	.	.
O	,030	,655	.	.	-,184	.	.
B	,040	,659	.	.	-,181	.	.
I	,050	,662	.	.	-,179	.	.
T	,060	,665	.	.	-,177	.	.
	,070	,668	.	.	-,175	.	.
	,080	,670	.	.	-,174	.	.
	,090	,672	.	.	-,172	.	.
	,100	,674	.	.	-,171	.	.
	,150	,683	.	.	-,166	.	.
	,200	,689	.	.	-,162	.	.
	,250	,695	.	.	-,158	.	.
	,300	,700	.	.	-,155	.	.
	,350	,705	.	.	-,152	.	.
	,400	,710	.	.	-,149	.	.
	,450	,714	.	.	-,146	.	.
	,500	,719	.	.	-,144	.	.
	,550	,723	.	.	-,141	.	.
	,600	,728	.	.	-,138	.	.
	,650	,732	.	.	-,135	.	.
	,700	,737	.	.	-,132	.	.
	,750	,743	.	.	-,129	.	.
	,800	,749	.	.	-,125	.	.
	,850	,756	.	.	-,121	.	.
	,900	,766	.	.	-,116	.	.
	,910	,768	.	.	-,115	.	.
	,920	,770	.	.	-,113	.	.
	,930	,773	.	.	-,112	.	.
	,940	,776	.	.	-,110	.	.
	,950	,780	.	.	-,108	.	.
	,960	,784	.	.	-,106	.	.
	,970	,789	.	.	-,103	.	.
	,980	,796	.	.	-,099	.	.
	,990	,806	.	.	-,093	.	.

a. Base del logaritmo = 10.

RESIDUOS Y FRECUENCIAS DE CASILLAS

Número	DOSIS	Número de sujetos	Respuestas observadas	Respuestas esperadas	Residuos	Probabilidad
PROBIT 1	-,180	10	1	1,928	-,928	,193
2	-,174	10	3	2,230	,770	,223
3	-,167	10	3	2,685	,315	,268
4	-,161	10	4	3,307	,693	,331
5	-,155	10	4	4,084	-,084	,408
6	-,149	10	5	4,975	,025	,498
7	-,143	10	5	5,917	-,917	,592
8	-,137	10	6	6,835	-,835	,684
9	-,131	10	8	7,666	,334	,767
10	-,125	10	9	8,364	,636	,836

4.3 DISCUSIÓN

En el presente una dificultad en los trabajos eco-toxicológicos acuáticos, específicamente de campo utilizando organismos bio-indicadores como los peces, es que diversos patrones como los ecológicos, morfológicos, fisiológicos y bioquímicos entre otros, se encuentran limitados al realizar la comparación con otros trabajos, por la falta de estudios de referencias en condiciones mínimas de contaminación incluyendo en muchas ocasiones a las mismas especies.

Los parámetros fisicoquímicos tomados durante las pruebas se mantuvieron constantes en el transcurso de la realización de los diferentes bioensayos, debido principalmente a que las condiciones fueron estables. Estos datos finales nos permiten concluir que los cambios presentados en los peces (nado errático a las 30 h y muerte a las 36 h), se deben principalmente a la presencia del cadmio en el agua de los acuarios, pues es claro que los peces pasan toda su vida en contacto con la misma, de tal forma que estos al permanecer su vida en un medio o ecosistema acuícola los expone mucho más que a cualquier otra especie y por consiguiente los convierte en bio-indicadores o indicadores de contaminación.

Tal vez lo que falte para un próximo bioensayo es relacionar las concentraciones de cadmio o de algún elemento contaminante con otras variables como temperatura, pH, etc.

5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en la presente investigación, se concluye:

1. Las dosis utilizadas de cadmio (acetato de cadmio) en el presente trabajo de investigación, causa efectos de toxicidad en los ejemplares de *Poecilia reticulata*, pero este depende principalmente al tiempo de exposición de los organismos, el cual se acentúa en la presente investigación a partir de las 36 horas de exposición.
2. En el presente trabajo se demuestra que ante la presencia de cadmio en concentraciones por sobre los 0,719 mg/lt, (1^{er} Obj. LT^m), este causa mortalidad luego de transcurridas las 36 horas a más del 50% de la población de *Poecilia reticulata*.
3. Gracias al análisis del PROBIT y al dato de la Respuesta Natural, este nos indica que no todos los peces mueren por culpa de la variable independiente (Concentración de cadmio).
4. De los datos obtenidos en el presente trabajo se puede colegir que el pez *Poecilia reticulata* puede ser tomado en cuenta como un bio-indicador de la presencia de elementos tóxicos como el cadmio en las aguas de ríos y estuarios. La tolerancia del mismo al cadmio sugiere su uso en pruebas eco-toxicológicas.
5. Mientras duró el trabajo de investigación, (2^{do} Obj.) se realizaron observaciones del comportamiento de los peces en estudio (*Poecilia reticulata*); tanto la temperatura como el pH se mantuvieron en niveles constantes, los peces a partir de las 30 horas presentaron un nado errático; a los peces muertos se les observó lesiones en la piel, queda como sugerencia para un próximo bioensayo relacionar estadísticamente las concentraciones de cadmio o de algún elemento contaminante con otras variables como temperatura, pH, etc.

6. RESUMEN

En el trabajo de investigación se evaluó el impacto eco-toxicológico del cadmio de origen antropogénico en las aguas de ríos y estuarios, sobre una especie que forma parte de nuestra fauna ictiológica como el *Poecilia reticulata* o pez “guppy”. Esta especie fue utilizada en este ensayo de corto tiempo, para poder determinar el impacto toxicológico del cadmio. En esta prueba se evaluó el porcentaje de mortalidad o Límite de Tolerancia media (LT^m) en el “guppy”, utilizando diferentes concentraciones de cadmio, además se evaluó la sensibilidad producida por el efecto toxico del cadmio en los ejemplares de *Poecilia reticulata*. En la Primera Fase en el acuario N°7 con una concentración de 0,70 mg/lit y habiendo transcurrido 36 horas de exposición del “guppy” se determinó la mortalidad del 50% de los peces del mismo; a partir de esta concentración se preparó la Segunda Fase, los datos obtenidos en esta fase son sometidos al programa SPSS el cual da como respuesta que concentraciones por sobre los 0,719 mg/lit es el Límite de Tolerancia medio (LT^m). Mientras duró el trabajo de investigación, se realizaron observaciones del comportamiento de los peces en estudio (*Poecilia reticulata*); tanto la temperatura como el pH se mantuvieron en niveles constantes, los peces a partir de las 30 horas presentaron un nado errático; a los peces muertos se les observó lesiones en la piel, queda como sugerencia para un próximo bioensayo relacionar estadísticamente las concentraciones de cadmio o de algún elemento contaminante con otras variables como temperatura, pH, etc. De los datos obtenidos en el presente trabajo se puede colegir que el pez *Poecilia reticulata* puede ser tomado en cuenta como un bio-indicador de la presencia de elementos tóxicos como el cadmio en las aguas de ríos y estuarios. La tolerancia del mismo al cadmio sugiere su uso en pruebas eco-toxicológicas.

Palabras claves: eco – toxicológico, fauna, ictiológico, bio – indicador, tóxico, estuarios.

7. SUMMARY

In the research of the eco - toxicological anthropogenic cadmium in the waters of rivers and estuaries impact on a species that is part of our fish fauna as *Poecilia reticulata* " fish or guppy " was evaluated. This species was used in this test short time in order to determine the toxicological impact of cadmium. In this test the percentage of mortality or average tolerance limit (LT^m) on the " guppy ", using different concentrations of cadmium was evaluated further sensitivity caused by the toxic effect of cadmium on the copies of *Poecilia reticulata* was evaluated. In Phase I in the aquarium^o 7 N concentration of 0.70 mg / Lt 36 hours after exposure " guppy " Having passed the 50% mortality of fish thereof was determined; since this concentration was prepared the second phase, the data obtained in this phase are subjected to SPSS which gives response to concentrations above the 0.719 mg / Lt is the average tolerance limit (LT^m) . The duration of the research, observations of fish behavior under study (*Poecilia reticulata*) were performed , both temperature and pH were maintained at constant levels , fish from 30 hours showed erratic swimming , fish deaths were observed in the skin lesions , left as a suggestion for an upcoming bioassay statistically relate the concentrations of cadmium or some contamination with other variables such as temperature, pH , etc. . From the data obtained in this work can be inferred that the fish *Poecilia reticulata* can be taken into account as a bio- indicator of the presence of toxic elements such as cadmium in the waters of rivers and estuaries. The same tolerance to cadmium suggests their use in ecotoxicological tests.

Keywords: ecotoxicology, wildlife, fishing grounds, biomarker, toxic, estuaries.

8. BIBLIOGRAFÍA CITADA

ANDERSON, P & K. HOLM. 1995. Cadmium in water and perch (*Perca fluviatilis*) liver in limed Stensjön in tyresta national park, Sweden. *Water Air and Soil Pollution* 85: 805-810.

ARGOTA G., ARGOTA H., LARRAMENDI D., MORA Y., FIMIA R., IANNACONE J. 2012. Histología y química umbral de metales pesados en hígado, branquias y cerebro de *Gambusia punctata* (Poeciliidae) del río Filé de Santiago de Cuba. *REDVET - Revista electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504*

APHA (American Public Health Association). 1976. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association. Washington.

COMUNICADO DE PRENSA DE LA COMISIÓN EUROPEA PARA EL MEDIO AMBIENTE del 27 de Noviembre de 1997.

CUVIN-ARALAR, M. L. & E. V. ARALAR. 1993. Effects of long-term exposure to a mixture of cadmium, zinc, and inorganic mercury on two strains of *Tilapia Oreochromis niloticus* (L.). *Bull. Environ. Toxicol.* 50:891-897. Springer-Verlag, New York, Inc.

GLYNN, A. W.; C. HAUX & C. HOGSTRAND. 1992. Chronic toxicity and metabolism of Cd and Zn in juvenile minnows (*Phoxinus phoxinus*) Exposed to a Cd and Zn Mixture. *Can. J. Aquat. Sci.* 49: 2070-2079.

JONES, J. R. E. 1971. *Fish and river pollution*. Butterworth & Co. (Publishers), London: 203 p.

HINTON, D. E. & D. LAURÉN. 1990. Integrative histopathology approaches to detecting effects of environmental stressors on fishes. *American Fisheries Society Symposium* 8: 51-66.

PÉREZ LÓPEZ et al. 2002. Niveles de plomo y cadmio en agua marina y lapas. Área de toxicología, Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. España.

PRIETO A.; QUESADA, A; y SILVEIRA, R. 1998. Manual de procedimientos operativos de trabajo. Laboratorio de Diagnostico Sanidad Acuicola. Centro de Investigaciones Pesqueras. La Habana, Cuba. 345p.

RIBELIN, W.E. & G.MIGAKI. 1975. The pathology of fishes. The University of Wisconsin Press.693 p.

TAFANELLI, R. & R. SUMMERFELT. 1975. Cadmium-Induced histopathological changes in goldfish. IN: The pathology of fishes. Edited By Ribelin y Migaki.The University of Wisconsin Press. 25: 613-693.

TOXICOLOGÍA AMBIENTAL – Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental. 2000, TheUniversity of Arizona

<http://www.who.int/es/>. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

www.fao.org/index_es.htm. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA FAO.