

UNIVERSIDAD TECNICA DE MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

TRABAJO DE TITULACIÓN

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA (CL_{50-96h}) CON
ACETATO DE CADMIO, EN JUVENILES *Liptopenaeus vannamei*
Y ALEVINES DE TILAPIA ROJA *Oreochromis sp.*

JONATHAN GONZALO CARRIÓN ESPINOZA

2014

UNIVERSIDAD DE TÉCNICA MACHALA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERIA ACUICOLA

TESIS SOMETIDA A LA CONSIDERACIÓN DEL HONORABLE CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE:

INGENIERO ACUACULTOR

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA (CL_{50-96h}) CON ACETATO DE CADMIO, EN JUVENILES *Liptopenaeus vannamei* Y ALEVINES DE TILAPIA ROJA *Oreochromis sp.*

JONATHAN GONZALO CARRIÓN ESPINOZA

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 ACUACULTOR

Ing. Acua. Cesar Valarezo Macías, Mg. Sc., Director

Dr. Patricio Rentería Minuche, Mg. Sc., Miembro

Ing. Acua. Omar Sánchez Romero, Mg. Sc., Miembro



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

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

Consigno con la presente escrito la cesión de los Derechos de Tesis de grado/ Trabajo de Titulación, de conformidad con las siguientes cláusulas:

Primera.-

Por su propios derechos y en la calidad de Director de Tesis el Ing. Acua. César Augusto Valarezo Macías, Mg. Sc. y el tesista Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza, por sus propios derechos, en calidad de autor de Tesis.

Segunda.-

El tesista Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza, realizo la Tesis Titulada, “DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA (CL_{50-96h}) CON ACETATO DE CADMIO, EN JUVENILES *Liptopenaeus vannamei* Y ALEVINES DE TILAPIA ROJA *Oreochromis sp.*”, para optar el Título de INGENIERO ACUACULTOR en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, bajo la dirección del Docente Ing. Acua. César Augusto Valarezo Macías, Mg. Sc. Es política de la Universidad que la Tesis de Grado se aplique y materialice en beneficio de la colectividad.

Los comparecientes Ing. Acua. César Augusto Valarezo Macías, Mg. Sc. como Director de Tesis y el tesista Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza, como autor de la misma, por medio del presente instrumento, tiene a bien ceder en forma gratuita sus derechos en la Tesis de grado

El tesista Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza, realizo la Tesis Titulada, ““DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA (CL 50-96h) CON ACETATO DE CADMIO, EN JUVENILES *Liptopenaeus vannamei* Y ALEVINES DE TILAPIA ROJA *Oreochromis sp.*” a favor de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala y concede la autorización para que Universidad pueda utilizar esta tesis en su favor y/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 días del mes de Julio del año 2014.

Ing. Acua. César Valarezo Macías, Mg. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza
AUTOR

RESPONSABILIDAD

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

Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a Dios todo poderoso, a mis padres y hermanos por su apoyo incondicional en todo momento.

A mi padre Ángel Gonzalo Carrión Armijos, a mi madre María del Carmen Espinoza Ordoñez a mis hermanos Ángel Gonzalo Carrión Espinoza, Mariuxi del Carmen Carrión Espinoza y Guissel Elizabeth Carrión Ríos quienes me brindaron su absoluto apoyo para que mis sueños como profesional y mis metas en común se cristalicen.

Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza

AGRADECIMIENTO

Expreso mi gratitud a las Instituciones y personas que de alguna manera hicieron posible la investigación del presente trabajo.

Mi agradecimiento de la Universidad Técnica de Machala a través de la Facultad Ciencias Agropecuarias, Carrera de Ingeniería Acuícola, a quienes debo mi formación profesional.

Al Ing. Acua. César Valarezo Macías, Mg. Sc. quien me guio en forma incondicional para la realización del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Patricio Rentería Minuche, Mg. Sc. y al Ing. Acua. Omar Sánchez Romero Mg. Sc. miembros de tesis.

Al Ing. Acua. Raúl Barrezueta Unda, por su amistad y colaboración brindada durante el presente trabajo de investigación.

A todos los profesores y compañeros.

Jonathan Gonzalo Carrión Espinoza

ÍNDICE DEL CONTENIDO

Temas	Pág.
1. Introducción	1
2. Revisión de literatura	3
2.1. Toxicología	3
2.1.1. Toxicología ambiental	4
2.1.2. Ecotoxicología ambiental	5
2.2. Efectos ecotoxicológicos	5
2.3. Pruebas de toxicidad	6
2.4. Criterios generales de selección de organismos para pruebas de toxicidad	7
2.5. Metales pesados: cadmio	9
2.6. Producción mundial de cadmio	10
2.7. Concentraciones de cadmio	10
2.8. Contaminación por cadmio	11
2.8.1. Acumulación de cadmio	12
2.8.2. Bioacumulación del cadmio	13
2.8.3. Vías de absorción	13
2.9. Cadmio en el medio ambiente	14
2.9.1. Emisiones atmosféricas	15
2.9.2. Contaminación del agua	15
2.9.3. Contaminación de suelos	16
2.10. Efectos del cadmio sobre la salud	16
2.11. Efectos ambientales del cadmio	17
2.12. Toxicidad del cadmio	18
2.13. Análisis de Probit	20
3. Materiales y métodos	22
3.1. Lugar de realización	22
3.1.1. Equipos y materiales	22
3.1.1.1 Materiales de laboratorio	22
3.1.2. Materiales de campo	23
3.1.2.1. Equipos	23
3.1.2.2. Reactivos	23
3.1.2.3. Insumos	23
3.1.3. Muestra	23
3.1.4. Variables en estudio	23

3.1.5. Medición de las variables	23
3.2. Métodos	24
3.2.1. Método de estimación del CL ₅₀₋₉₆ horas	24
3.2.1.1. Determinación de la concentración letal media CL ₅₀	24
3.2.3. Recolección de muestras	24
3.2.4. Preparación de concentraciones	24
3.2.5. Siembra de juveniles	25
3.2.6. Estimación de resultados	25
3.2.7. Evaluación	26
3.2.8. Gráfico de resultados	26
3.3. Diseño experimental	26
3.3.1. Análisis estadístico	27
3.3.1.1. Descripción del análisis de Probit	27
3.3.1.2. Pasos para realizar el análisis de Probit	27
3.3.1.3. Estimación de la concentración letal media (CL ₅₀)	28
4. Resultados y discusión	29
4.1. Prueba toxicidad en alevines de tilapia	29
4.2. Parámetros del ensayo con alevines de tilapia roja <i>Oreochromis sp.</i>	37
4.2.1. Parámetros a las 24 horas	37
4.2.2. Parámetros a las 48 horas	38
4.2.3. Parámetros a las 72 horas	38
4.2.4. Parámetros a las 96 horas	39
4.3. Prueba de toxicidad en camarones juveniles	39
4.4. Parámetros del ensayo en larvas camarones <i>Litopenaeus vannamei.</i>	47
4.4.1. Parámetros a las 24 horas	48
4.4.2. Parámetros a las 48 horas	48
4.4.3. Parámetros a las 72 horas	49
4.4.4. Parámetros a las 96 horas	49
5. Conclusiones	50
6. Resumen	51
7. Abstract	52
8. Bibliografía	53
Apéndices	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Pág.
1.- Organismos Utilizados como especies de pruebas en bioensayos	8
2.- Parámetros y rangos ecotoxicológicos necesarios para la evaluación del riesgo ambiental producido por metales.	9
3.- Clasificación toxicológica, según la CL ₅₀ en peces.	9
4.- Valores de emisión de cadmio (Tm/año).	15
5.- Distribución de soluciones de acetato de cadmio en acuarios	25
6.- Supervivencia de peces de tilapia roja <i>Oreochromis sp.</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la primera repetición.	29
7.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio estadístico Probit en tratamiento uno con alevines de tilapia roja	30
8.- Supervivencia de peces de tilapia roja <i>Oreochromis sp.</i> , a intervalos 24, 48, 72 y 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la segunda repetición.	31
9.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio del Probit en tratamiento dos con alevines de tilapia roja	32
10.- Supervivencia de peces de tilapia roja <i>Oreochromis sp.</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la tercera repetición.	33
11.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio del Probit en tratamiento tres con alevines de tilapia roja	34
12.- Supervivencia de peces de tilapia roja <i>Oreochromis sp.</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la cuarta repetición.	35
13.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio del Probit en el cuarto tratamiento con alevines de tilapia roja	36
14.- Parámetros obtenidos a 24 horas en el ensayo.	37
15.- Parámetros obtenidos a 48 horas en el ensayo	38
16.- Parámetros obtenidos a 72 horas en el ensayo.	38
17.- Parámetros obtenidos a 96 horas en el ensayo.	39
18.- Supervivencia de las larvas de camarón <i>Litopenaeus vannamei</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la primera repetición.	39
19.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio estadístico Probit en tratamiento uno con larvas de camarones <i>Litopenaeus vannamei</i>	40
20.- Supervivencia de las larvas de camarón <i>Litopenaeus vannamei</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la segunda repetición.	41

21.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio estadístico Probit en tratamiento dos con larvas de camarones <i>Litopenaeus vannamei</i> .	42
22.- Supervivencia de las larvas de camarón <i>Litopenaeus vannamei</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la tercera repetición.	43
23.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio estadístico Probit en tratamiento tres con larvas de camarones <i>Litopenaeus vannamei</i> .	44
24.- Supervivencia de las larvas de camarón <i>Litopenaeus vannamei</i> , a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O en la cuarta repetición.	45
25.- Determinación de CL ₅₀ de (CH ₃ COO) ₂ Cd2H ₂ O por medio estadístico Probit en tratamiento cuatro con larvas de camarones <i>Litopenaeus vannamei</i> .	46
26.- Parámetros obtenidos a 24 horas en el ensayo.	48
27.- Parámetros obtenidos a 48 horas en el ensayo.	48
28.- Parámetros obtenidos a 48 horas en el ensayo	49
29.- Parámetros obtenidos a 96 horas en el ensayo.	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1.- Supervivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la primera repetición	31
2.- Supervivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la segunda repetición.	33
3.- Supervivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la tercera repetición.	35
4.- Supervivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la cuarta repetición.	37
5.- Supervivencia de las larvas de camarón expuestos a al bioensayo en la primera repetición.	41
6.- Supervivencia de las larvas de camarón expuestos a al bioensayo en la segunda repetición.	43
7.- Supervivencia de las larvas de camarón expuestos a al bioensayo en la tercera repetición.	45
8.- Supervivencia de las larvas de camarón expuestos a al bioensayo en la cuarta repetición.	47

1. INTRODUCCIÓN.

Los metales pesados están considerados como serios contaminantes del ecosistema acuático, muchos de estos compuestos no biodegradables son absorbidos y acumulados por los peces e incorporados en la trama trófica, causando problemas latentes de salud en uno de los más importantes consumidores finales: el hombre. Los peces son utilizados cada vez con mayor frecuencia como modelos para trabajos experimentales, pues su pequeño tamaño y la rápida reproducción los hacen particularmente idóneos para las más variadas pruebas, especialmente como animales de prueba en investigaciones de toxicología y el monitoreo de la contaminación del medio acuático. Además, los costos en términos económicos y biológicos pueden ser reducidos mediante el uso de pequeños peces de acuario en estudios de toxicidad, los cuales presentan diferentes patrones de acumulación, dependiendo del metal, de la concentración en el medio y del tiempo de exposición.

Los bioensayos han sido el método tradicional para documentar la presencia o ausencia de efectos aparentes de los contaminantes sobre los sistemas vivos. Las pruebas letales o toxicidad aguda (CL_{50}) permiten evaluar los principales efectos de los contaminantes sobre la estructura de los organismos o de las poblaciones acuáticas a corto plazo. Los métodos más utilizados en estudios de contaminación son los de carácter fisicoquímico e hidrobiológico; un enfoque intermedio lo brindan los bioensayos en laboratorio que establecen un puente entre estos procesos y documentan la presencia o ausencia de efectos aparentes de los contaminantes sobre los sistemas vivos.

Uno de los efectos biológicos más comunes se presenta en los parámetros hematológicos, los cuales son de gran utilidad debido a que indican, con relativa rapidez, cualquier perturbación fisiológica que afecte la salud de la población piscícola. La EPA (Environmental Protection Agency) de EEUU establece que el contenido de cadmio en aguas naturales no debe sobrepasar 0,01mg/l. Aun cuando las aguas naturales no superan las concentraciones empleadas normalmente en los ensayos agudos de toxicidad, es bien sabido que la

bioacumulación del cadmio en los peces produce malformación de la estructura ósea y desórdenes en el sistema nervioso.

De aquí la importancia del estudio de las respuestas de la ictiofauna expuesta a la toxicidad de metales pesados, como el acetato de cadmio, que permita obtener una información de referencia aplicable a los estudios de toxicidad en peces cultivados en esta aguas.

El presente trabajo de investigación se lo realizara para determinar la toxicidad del acetato de cadmio en juveniles *Litopenaeus vannamei* y alevines de tilapia roja *Oreochromis spp.* Por las razones antes expuestas se han planteado los siguientes objetivos:

1. Determinar la concentración letal media en juveniles *Litopenaeus vannamei* y en alevines de tilapia roja *Oreochromis spp.* utilizando diferentes concentraciones de Acetato de Cadmio.
2. Evaluar la sensibilidad producida por el efecto toxico del Acetato de Cadmio en los juveniles *Litopenaeus vannamei* y en alevines de tilapia roja *Oreochromis sp.*

2. REVISION DE LITERATURA.

2.1. TOXICOLOGÍA.

La toxicología es el estudio de los contaminantes tóxicos o en una definición más precisa, la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición de agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones. En la toxicología es fundamental conocer el potencial tóxico de la sustancia que esté generando el efecto adverso, para poder evaluar el peligro que representa. El efecto tóxico es el producido por uno o varios agentes tóxicos sobre un organismo, población o comunidad que se manifiesta por cambios biológicos. Su grado se evalúa por una escala de intensidad o severidad y su magnitud está relacionada con la dosis (cantidad de sustancia administrada, expresada generalmente por unidad de peso corporal) o la concentración (sustancia aplicada en el medio) del agente tóxico. Dosis letal es la cantidad de sustancia toxica que causa la muerte a la totalidad de la población expuesta. La dosis letal media es la cantidad del tóxico que al ser administrada una sola vez, en un determinado tiempo produce una mortalidad del 50% de los organismos que son expuestos, ésta es expresada en miligramo de la sustancia por kilogramo del animal (ml/kg), (Campos, 2002).

La aplicación de productos plaguicidas puede tener diferentes riesgos e inconvenientes que ya se han comentado. Uno de los que más directamente afecta al hombre es el derivado de su manipulación y aplicación en campo. En la etiqueta de los envases de cualquier producto fitosanitario figura siempre una clasificación toxicológica a varios niveles que es importante conocer. Esta clasificación toxicológica se obtiene después de estudiar el efecto de los plaguicidas en diversos seres vivos, en múltiples tipos de ensayos, extrayendo conclusiones que se extrapolan al hombre y su efecto sobre fauna diversa. Con el término toxicidad se expresa en qué grado es nocivo un plaguicida para la salud de los seres vivos, especialmente el hombre. Esta toxicidad varía según la concentración y formulación del producto fitosanitario, y está definida por la dosis letal media (DL50), que es la cantidad de producto

que ingerido de una vez produce la mortalidad del 50 % de los animales en que se experimenta (que suelen ser ratas o cobayas). Se expresa en mg de producto ensayado por kg de peso vivo. Si el producto actúa por vía respiratoria, su toxicidad se expresa por la concentración letal media (CL50), que equivale a la DL50 (Klaassen y Watkins, 2005).

Hay dos tipos importantes de toxicidad: crónica y aguda. La primera se refiere a la originada por los productos que son aplicados de forma continuada, aunque a dosis subletales, y pueden producir efectos perjudiciales a largo plazo, generalmente asociados con la acumulación en tejidos y distintos órganos internos. La toxicidad aguda es la producida de forma repentina pero no acumulable. Normalmente la toxicidad suele referirse a la ingestión del producto (toxicidad oral), pero existen otras dos vías: la toxicidad dermal, provocada por el producto en contacto con la piel, y la toxicidad por inhalación, al respirar sus vapores. Estas toxicidades corresponden con las distintas vías de entrada de los plaguicidas en el cuerpo: vía digestiva, vía cutánea y vía respiratoria. De acuerdo con los ensayos de laboratorio sobre diversos animales superiores y otros seres vivos, donde se estudian todas estas formas de toxicidad, su acumulación en el suelo, en el agua, etc., se asigna a cada formulado fitosanitario una categoría toxicológica en diversos grupos de seres vivos (Bello y López, 2001).

2.1.1. TOXICOLOGÍA AMBIENTAL.

El objetivo principal de la toxicología ambiental es el conocimiento de los efectos nocivos que sobre la salud humana y el medio ambiente pueden producir los contaminantes ambientales, ya que las enfermedades son la respuesta del individuo a su ambiente y la estructura de estas es un reflejo de las condiciones ambientales de su entorno. Nunca los seres vivientes habían estado en contacto con tantos tóxicos como en esta era industrial, atómica y mecanizada, y, por tanto, la toxicología ha desplazado a los tóxicos clásicos como el arsénico, cianuro, estricnina y otros, para dar paso a los nuevos tóxicos, como son los contaminantes del medio ambiente.

Otro aspecto a tener en cuenta es que la actividad antrópica, bien sea directamente por la acción tóxica de los xenobióticos, o bien indirectamente, a través de la influencia sobre los factores climáticos, puede incidir en la evolución y emergencia de enfermedades originadas por agentes infecciosos. Así por ejemplo, las alteraciones ambientales suelen tener un fuerte impacto (inmunodepresión) sobre los organismos que actúan de vectores o son reservorios de estos agentes, y pueden contribuir a la aparición de nuevas enfermedades en

una región determinada, o bien la emergencia de zoonosis que se consideraban erradicadas (Vallejo, 2007)

2.1.2. ECOTOXICOLOGÍA AMBIENTAL.

La ecotoxicología es definida como la ciencia que estudia la contaminación, su origen, evolución e interacciones con las moléculas que integran dinámicamente los ecosistemas, su evaluación y profilaxis biológica y socioeconómica.

En relación con la contaminación ambiental podemos diferenciar entre:

- ✓ La contaminación con consecuencias humano-toxicológicas,
- ✓ La contaminación que afecta la biósfera y por tanto altera el equilibrio biológico.
- ✓ La contaminación que afecta la apariencia o paisaje de nuestro medio ambiente.

También podemos diferenciar entre la contaminación química, debida a la acción química de sustancias contaminantes que afectan el medio ambiente, y la contaminación física, bajo la cual se pueden incluir los agentes de naturaleza física que igualmente producen equilibrio ambiental como los materiales biológicamente inertes (plásticos), el calor, el ruido y la radiactividad, entre otros (Campos, 2002).

Al hablar de los contaminantes ambientales se puede afirmar que todos ellos tienen la capacidad de causar el efecto tóxico cuando la dosis llega a cierto nivel. Esto indica la existencia para cada contaminante de un nivel sin efecto, es decir, que no produce efectos adversos, conocido con la sigla de NOEL (no effect level), y otro nivel que produce efectos adversos, llamado nivel tóxico. Así, por ejemplo, el agua si se toma en exceso producirá una intoxicación hídrica mortal. Estos dos niveles de dosis posibilitan conocer los niveles permisibles, es decir, aquellas concentraciones que no producen efectos tóxicos por exposición a contaminantes durante toda la vida de un individuo (Vallejo, 2007).

2.2. EFECTOS ECOTOXICOLÓGICOS.

La ecotoxicología se vale de dos herramientas básicas para realizar sus investigaciones: el monitoreo ambiental y el monitoreo biológico. El monitoreo ambiental permite establecer las formas mediante las cuales se liberan los compuestos y determinar cuál es su destino en ambiente. Es un procedimiento para detectar la presencia y cuantificar las concentraciones de los contaminantes en los diferentes compartimentos, incluyendo al aire, agua, suelo y

sedimentos. Un buen monitoreo ambiental debe considerar un muestreo representativo, técnicas adecuadas para la colecta y preservación de las muestras, así como métodos apropiados de extracción y análisis, siguiendo prácticas estandarizadas en el laboratorio. En este tipo de ensayos la población en estudio es aislada de las interacciones con otros organismos, compuestos y factores ambientales, es decir, se utiliza un sistema simplificado que permite conocer con mayor facilidad los efectos atribuibles a una sustancia. Sin embargo, no es sencillo extrapolar los resultados obtenidos a las condiciones que se presentan en la naturaleza (Larrain, 1995).

2.3. PRUEBAS DE TOXICIDAD.

Una prueba de toxicidad típica involucra un agente o estímulo (por ejemplo, un pesticida, un metal pesado o una muestra ambiental con contaminantes químicos), el cual se aplica a un organismo o grupo de organismos (por ejemplo, un cultivo bacterial o de un alga, animales, o plantas) al que denominaremos genéricamente sujeto, sobre el que se evalúa una cierta respuesta preseleccionada. La magnitud del estímulo o dosis puede medirse como un peso, un volumen o una concentración. Deben ser de la misma especie, sexo, peso, edad y tamaño. Tener un tiempo de vida adecuado. Además, todas las pruebas deben ser realizadas con lineamientos aceptados por los organismos internacionales y de acuerdo con principios de las buenas prácticas de laboratorio (normas GLP) (Del Valls y Conradi, 2000).

Solamente los estudios de toxicidad aguda, son requeridos para todos los contaminantes, los otros pasos de evaluación de efectos son definidos por:

- Hallazgos en los estudios de toxicidad aguda
- La magnitud de la exposición (propiedades, destino, concentraciones ambientales)
- Los patrones de uso, condiciones de aplicación

Los criterios utilizados para el estudio de toxicidad subcrónica, crónica y otros estudios a largo plazo son los siguientes:

- Presencia en aire, aguas y suelos, continua, recurrente y significativamente.
- Alta toxicidad aguda (Ej. $CL_{50} < 1.0$ mg/l en peces).
- Concentraciones ambientales estimadas iguales o mayores a la DL_{50} , CL_{50} o CE_{50} .
- Persistencia en aguas, suelos, aire y alimentos. (Vida media en aguas superficiales más de 4 días, en aguas subterráneas más de 21 días y en suelos más de 100 días.

- Contenido de impurezas e isómeros con efectos a largo plazo (mutaciones, cáncer, malformaciones, etc.)

Para la evaluación de la toxicidad se pueden utilizar tres formas de aproximación: observación y estudio de exposiciones ocupacionales o accidentales, trabajos experimentales con organismos de prueba o ensayos con células expuestas a los tóxicos. Teniendo en cuenta que la medición de efectos en humanos expuestos a sustancias químicas requiere complejas investigaciones prospectivas o retrospectivas, así como contar con estudios epidemiológicos muy precisos, a nivel ambiental se utiliza la experimentación con diferentes organismos acuáticos, generalmente representantes importantes de la cadena trófica (Del Valls y Conradi, 2000).

2.4. CRITERIOS GENERALES DE SELECCIÓN DE ORGANISMOS PARA PRUEBAS DE TOXICIDAD.

En la actualidad, se cuenta con un gran número de organismos que pueden usarse para pruebas de toxicidad o bioensayos acuáticos. Se han definido criterios para la selección de las especies más apropiadas aunque es necesario tener en cuenta las características ecológicas en que ellas se desarrollan. En general, la selección de un organismo se basa en los objetivos del programa toxicológico, la información disponible sobre su biología, las características de las especies, las instalaciones y el equipo del laboratorio y el nivel de capacitación de los técnicos. Cuando se inicia un programa de evaluación de calidad de agua en el cual se llevarán a cabo pruebas de toxicidad, el primer paso es seleccionar las especies con las que se va a trabajar (Díaz-Báez, 2004).

En general, los organismos acuáticos tienen ciclos de vida y requerimientos de cultivo y de manejo complejos. El obtener esta información es una tarea larga y frecuentemente requiere años de investigación. Por ello, es recomendable considerar sólo aquellos organismos de los que se tiene información suficiente en cada una de estas áreas. Las especies de las cuales no existe información sobre cultivo y procedimientos de prueba requieren de un manejo cauteloso y uso limitado.

El diseño de las pruebas debe ser considerado en el contexto del ciclo de vida del organismo. La mayoría de protocolos de bioensayos agudos y crónicos requieren de organismos jóvenes o recién nacidos. Sin embargo, en algunos protocolos se utilizan organismos adultos

(crecimiento de ostras). Igualmente, en ensayos crónicos donde se evalúa la reproducción, el tiempo necesario para tal proceso será un factor clave (Rand y Petrocelli, 1985).

Cuando la respuesta a las anteriores preguntas es afirmativa se recomienda que las pruebas se lleven a cabo con organismos colectados en campo, lo cual tendrá como ventaja que ellos serán representativos de la comunidad impactada. Como desventajas se señalan, el estrés y la mortalidad asociada con la recolección y transferencia al laboratorio. Además hay limitación en la disponibilidad de los organismos, especialmente con especies que no abundan durante todo el año o tienen cambios durante su ciclo de vida. La edad, la salud y las condiciones de cultivo de los organismos en muchos casos son desconocidas, y no existe un procedimiento para obtener organismos estandarizados del campo.

Existe sin embargo una preferencia para utilizar organismos criados en el laboratorio en vez de los recolectados en el campo, ya que las pruebas estandarizadas requieren de un abastecimiento continuo de organismos en buen estado de salud y que provengan de cultivos con condiciones conocidas y constantes. Los bioensayos hechos en el laboratorio con organismos recolectados en el campo han sido menos satisfactorios, aunque se pueden obtener buenos resultados cuando el laboratorio está cerca al lugar de recolección y desde allí el abastecimiento de agua es permanente (Castillo, 2004).

Tabla 1.- Organismos Utilizados como especies de pruebas en bioensayos.

Organismos	Laboratorio	Suministro campo	Uso
Algas	Excelente	Difícil de recolectar y mantener en cultivo puro	Amplio
Protozoos			Muy limitado
Invertebrados Planctónicos			
Rotíferos	Bueno	Difícil de recolectar y mantener en cultivo puro	Limitado
Cladóceros	Excelente	Alta tasa de mortalidad después de la recolección	Amplio
Copépodos	Mediano	Bueno	Limitado
Camarones	Bueno		Amplio
Invertebrados Bentónicos			
Anélidos	Mediano	Mediano	Limitado
Insectos	Bajo		
Moluscos	Bueno		
Crustáceos	Bajo		Amplio
Peces	Excelente	Alta tasa de mortalidad después de la recolección	

Fuente: Díaz-Báez, 2004.

Tabla 2.- Parámetros y rangos ecotoxicológicos necesarios para la evaluación del riesgo ambiental producido por metales.

Organismos	Parámetros
Aves	DL ₅₀ en una o dos especies (preferible codorniz o pato)
Invertebrados Terrestres	DL ₅₀ oral en abejas
Peces	CL ₅₀ , 96 h en dos especies (trucha y bluegill sunfish
Invertebrados Acuáticos	CL ₅₀ , 48 horas de exposición
Daphnia Magna	CE ₅₀ , 48 horas de exposición
Algas	Inhibición de crecimiento CL ₅₀ , 96 h

Fuente: Vallejo, 2007

Tabla 3.- Clasificación toxicológica, según la CL₅₀ en peces.

Categoría	CL ₅₀ mg/l, 96 horas
I. Extremadamente toxico	Igual o menor a 0.1
II. Altamente toxico	0.1 - 1
III. Moderadamente toxico	01-oct
IV. Ligeramente toxico	10 - 100
V. Prácticamente No toxico	Mayor a 100

Fuente: Vallejo, 2007

2.5. METALES PESADOS: CADMIO.

Los metales pesados están considerados como serios contaminantes del ecosistema acuático, muchos de estos compuestos no biodegradables son absorbidos y acumulados por los peces e incorporados a la cadena trófica, causando problemas latentes de salud en los consumidores finales, como el hombre. El cadmio es un elemento químico de número atómico 48 situado en el grupo 12 de la tabla periódica de los elementos. Su símbolo es Cd, es un metal pesado, blanco azulado, relativamente poco abundante. Es uno de los metales más tóxicos. Normalmente se encuentra en menas de zinc y se emplea especialmente en pilas. (Figueroa, 1998.)

La fuente principal del cadmio en el agua son los efluentes provenientes de fábricas de electro galvanizados, petroquímicas y de la lixiviación de depósitos geológicos. Este metal es

absorbido dentro del organismo y en el agua puede formar complejos solubles con sustancias húmicas no reduciéndose su toxicidad como ocurre con otros metales. La incorporación del cadmio a la cadena alimentaria se hace principalmente a través de la dispersión en el suelo y aguas hasta las plantas y animales marinos. El ser humano incorpora al organismo aproximadamente un tercio del cadmio al que está expuesto con los alimentos de origen animal que consume y dos tercios de origen vegetal (Antón y Lizaso, 2001).

2.6. PRODUCCIÓN MUNDIAL DE CADMIO.

La producción mundial del cadmio es de más de 20 mil toneladas/año. El cadmio es muy resistente a la corrosión y se utiliza para su electrodeposición galvánica en otros metales, especialmente el acero y el hierro. Además, por su inalterabilidad al calentamiento, el cadmio amarillo, se emplea sobre todo en la industria del plástico como en la de pinturas, de tinta de colores, en la fabricación de acumuladores y baterías al Ni/Cd, o de aparatos radiofónicos o de TV; en menor medida. Debido a su elevada dispersión ambiental el cadmio se encuentra en el aire, en el suelo, y en el agua, y como todos los metales pesados causa un impacto ambiental que modifica los parámetros de calidad del agua y del suelo (Figuerola, 1998.)

2.7. CONCENTRACIONES DE CADMIO.

Las concentraciones de cadmio en las aguas marinas no contaminadas son de 0,04/0,3 mg por litro, en las aguas naturales son inferiores a 1 mg/l, en el suelo son menos de 1 mg/l, mientras que alrededor de zonas industriales pueden alcanzar niveles más elevados, 60-70 mg/litro, siendo sus fuentes de emisión principales los vertidos industriales, las centrales a carbón y los incineradores (Pinot, *et al*, 2011)

En las zonas rurales no contaminadas la concentración media anual de cadmio en el aire es de 300 Pg /m³, mientras que cerca de las zonas industriales la concentración media semanal en el aire supera con facilidad a los 500 Pg. /m³. El transporte a distancia a través de la atmósfera representa una fuente relevante de contaminación para las zonas no industrializadas. El suelo es el primero en ser objeto de inmisión de metales pesados y por lo tanto de cadmio, por la caída de partículas difundidas en el aire por actividades industriales, por la actividad humana (vertederos, coches, y otros), por su presencia en los fertilizantes químicos, o por su acumulación después de los incendios. La concentración del cadmio en el

suelo depende del pH de la tierra, que tiene la función primaria de controlar la solubilidad y movilidad del metal, y además, desempeña un papel fundamental en determinar su disponibilidad para las plantas.

La absorción del cadmio por los vegetales es fácil. El metal es uno de los pocos elementos capaces de acumularse en las porciones comestibles de las plantas, pudiendo alcanzar niveles tóxicos para los humanos. Efectivamente, la absorción del cadmio por parte de las plantas representa uno de los primeros estadios de bioacumulación en las cadenas alimentarias. En la sustancia seca, las hojas generalmente presentan un contenido en cadmio más elevado respecto a las raíces, a los frutos y a las semillas (Pinot, *et al*, 2011)

2.8. CONTAMINACIÓN POR CADMIO.

El cadmio es un metal que no se encuentra libre en la naturaleza y sólo existe un mineral que lo contiene en cantidad apreciable, la greenconita o sulfuro de cadmio. Es un elemento divalente, con un peso atómico de 48, masa atómica de 112,41, punto de fusión 320,9 °C y punto de ebullición de 767 °C. Es fácilmente soluble en ácidos minerales, con los que forma las sales correspondientes y es insoluble en agua, aunque sus sales de cloro y sulfato sí lo son. La incorporación natural de cadmio procede, principalmente, de la actividad volcánica, lixiviación de rocas e incendios forestales. Las fuentes antropogénicas de cadmio varían desde productos de la extracción de zinc, combustión de carbón, escoria de las minas, material catódico de baterías, producción de hierro y acero, y fertilizantes y pesticidas (EPA, 1999).

El impacto del cadmio en los organismos acuáticos depende de una gran variedad de formas químicas posibles que pueden afectar a la toxicidad y acumulación de los organismos. En este sentido, la utilización del cadmio por parte del hombre ha influido en sus efectos tóxicos en gran variedad de organismos, no sólo por las aportaciones antropogénicas al medio, sino también porque altera la especiación o forma química de los elementos. Los ciclos geológicos naturales de muchos metales están siendo alterados como consecuencia de las actividades humanas. Se considera que las rutas principales de entrada de metales en medio acuático son la atmósfera y los ríos. Como consecuencia de esta actividad, los vertidos de cadmio son entre 1 y 3 órdenes de magnitud mayores que los procedentes de flujos naturales. Este impacto se ha notado en áreas tan lejanas como el ártico, sujeto a considerable control de

la contaminación. La principal fuente del cadmio disuelto en los océanos es la atmósfera (Brown y Depledge, 1998).

Aunque, hasta el momento, no tenemos constancia de ningún vertido de origen mineral o industrial que haya contaminado severamente alguna salina, los metales llegan en mayor o menor grado a estos ecosistemas. Los lagos salinos se convierten lentamente en sumideros de todo tipo de elementos que se descargan en ellos a través de los ríos (Taher y Soliman, 1999).

2.8.1. ACUMULACIÓN DE CADMIO.

Algunos investigadores piensan que la acumulación del cadmio en el suelo no depende tanto de su concentración, sino de la relación s.f./Cd: cuanto más se aproxima o es mayor de 100, menor será la acumulación del metal. Según una estimación aproximada, la mayor distribución potencial de los metales pesados y por lo tanto del cadmio, se encuentra en el agua y en las especies acuáticas tanto vegetales como animales. Éstas últimas se utilizan frecuentemente como bioindicadores. Por ejemplo, en algunas especies marinas como la “posidonia oceánica *spiaggiata*”, se ha observado que el contenido de metales pesados y entre ellos el cadmio, es directamente proporcional al nivel de contaminación marina. Además, los moluscos bivalvos como el “*Mytilus, Gallo Provincialis*”, bioindicadores capaces de bioacumular, bioconcentrar y provocar procesos de biomagnificación, pueden representar en los diferentes ecosistemas y en especial de las aguas costeras, un indicador útil y precoz del grado de contaminación por metales pesados, sobre todo de cadmio y mercurio (Alimonti, *et al*, 2000)

Los peces y algunos vertebrados también son extremadamente sensibles a pequeñas concentraciones de cadmio; las concentraciones de 1.2 Pg/litro y 0.4 Pg/litro, son consideradas peligrosas según se trate de aguas más o menos duras respectivamente. En los músculos de algunos peces, han sido hallados niveles mil veces superiores a los presentes en el agua, presentando concentraciones tóxicas para los eventuales consumidores (Goering, 1995).

En relación a los posibles efectos sobre la salud humana y animal, los metales se dividen en esenciales, no esenciales y tóxicos. Los componentes de estos tres grupos se han modificado con el progreso de las investigaciones. De todas formas, aún no es aceptable del todo una distinción absoluta entre los tres grupos. Esta distinción tiende a simplificar las relaciones

entre organismo y metales, ya que los 14 elementos considerados hoy esenciales para la vida animal y los 20-30 no esenciales son todos tóxicos si se ingieren en niveles suficientemente elevados durante largos períodos de tiempo. En algunos casos, por tanto, la esencialidad y la toxicidad de un metal dependen de la duración de la exposición, la dosis, la vía de administración, la forma química del compuesto metálico absorbido y de la vida media corporal (Puklova *et al*, 2005).

2.8.2. BIOACUMULACIÓN DEL CADMIO.

La bioacumulación representa el cociente entre los niveles de un elemento en un organismo y la cantidad del mismo en el entorno en el que vive, o en las distintas especies de organismos animales o vegetales del que se alimenta. Mientras que en el hombre y en el ganado el problema de la bioacumulación puede ser controlado mediante la utilización de pruebas limitadas al régimen alimenticio suministrado, en los animales salvajes, el problema es mucho más complicado y puede ser valorado sólo en base a la entidad de la contaminación ambiental (Bencko, 1995).

La bioacumulación de los metales pesados en el organismo es relevantemente tóxica, y se manifiesta con la aparición de patologías en diferentes órganos y tejidos. Para el estudio de las distintas fases de absorción, distribución, biotransformación y excreción del cadmio, han sido propuestos varios modelos metabólicos multicompartimentales. Éstos han permitido determinar el ciclo que el metal cumple en el organismo y los compartimentos en los que se reparte según sea absorbido (Bernard *et al*, 1992).

2.8.3. VÍAS DE ABSORCIÓN.

En la población profesionalmente expuesta, la vía principal de absorción es el sistema respiratorio, con una dosis de absorción del 10 al 40% según se trate de polvo o humo y según las dimensiones de las partículas. Por otra parte, la vía respiratoria será también una importante vía de absorción durante la exposición extra profesional, ya que dicho metal es vaporizado en el humo producido durante la combustión del tabaco. Los cigarrillos pueden contener hasta 1.2 Pg de Cadmio, del cual el 10% es absorbido por los pulmones (Pant *et al*, 2003).

En los animales, las fuentes de cadmio están estrechamente relacionadas con la contaminación ambiental (piensos, las aguas contaminadas) así como, con los productos utilizados como

acaricidas. Por otra parte, la absorción por vía digestiva presenta un cierto interés toxicológico, aunque menor, ya que el poderoso efecto emético del metal limita notablemente su toxicidad. Además, ésta última depende de factores dietéticos: es mayor en dietas pobres en calcio, vitamina D, hierro y proteínas y, menor en regímenes ricos en zinc. Hay que recordar, en realidad, que el cadmio desde un punto de vista químico y metabólico presenta una fuerte afinidad con el zinc, y muchos síntomas de la toxicidad del cadmio son parecidos a los de falta de zinc.

Muchos estudios epidemiológicos desde hace tiempo han indicado la interacción tóxica y cinética entre cadmio-zinc y plomo-zinc. Efectivamente, como consecuencia de una exposición a bajos niveles de Cadmio-plomo se observa una relativa deficiencia de zinc. Uno de los efectos de la toxicidad del cadmio es debido a una mayor exigencia de zinc además del cobre y el hierro.

En la absorción por vía digestiva se producen alteraciones interesantes como las lesiones inflamatorias de la mucosa oral y la alteración del color de los dientes. La absorción después de la ingestión es condicionada por diferentes variables, como la dimensión de las partículas ingeridas, el ph, la velocidad del tránsito gastroentérico, la ingestión de otros alimentos al mismo tiempo, la solubilidad del compuesto metálico y las interferencias con otros metales. Una vez absorbido, el metal se reparte en muchos órganos y tejidos diana en forma libre o enlazada; entre dichos órganos, los principalmente afectados son el hígado y el riñón que juntos pueden contener más del 75% del cadmio total. Otros órganos depósito, son los pulmones, la hipófisis, el páncreas, la glándula tiroides, los músculos, los testículos, las glándulas salivales y el tejido óseo (Frinberg and Vahter, 1983).

2.9. CADMIO EN EL MEDIOAMBIENTE.

Podemos hallar cadmio en la atmósfera, en el agua y en el suelo. A continuación describiremos cómo llega este metal a cada uno de estos ecosistemas. 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 del plomo. Actualmente, se sigue relacionando la contaminación por cadmio con este tipo de industria, es donde se producen mayores emisiones al medio ambiente. Sin embargo, también se producen emisiones de

cadmio, aunque en mucha menor cantidad, en la combustión de basuras, combustión de carbón, industria del acero y producción de cementos. 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 (Oskarsson *et al*, 2004).

Tabla 4.- Valores de emisión de cadmio (Tm/año).

Origen de la Emisión	Emisión de Cadmio (Tm./año)- media
Combustión Carbón	232
Combustión de aceites	143
Producción de Plomo	117
Producción de Cobre/níquel	2550
Producción de Zinc/Cadmio	2760
Incineración de basuras	748
Industria del acero	156
Producción de cementos	272
Industria de Fertilizantes	171

Fuente: Oskarsson, 2004

2.9.1. EMISIONES ATMOSFÉRICAS.

La mayoría de las emisiones a nivel atmosférico se realizan a través de la industria del metal, seguida 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 estas zonas, siendo menor, por ejemplo, en áreas rurales. Sin embargo, se sabe que 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 (Moreau *et al*, 1983).

2.9.2. CONTAMINACIÓN DEL AGUA.

El cadmio que llega al agua procede principalmente de vertidos industriales y urbanos. La contaminación depende también de la cercanía de superficies acuáticas a zonas urbanas, ya que no será igual la cantidad del 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 acuática, y representa el 23% del cadmio contaminante, es decir, es la vía principal de entrada de cadmio en agua. El 3 de diciembre de 1997 la Comisión Europea estableció 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 son 0.02 mg/l promedio mensual (Frery *et al*, 1993).

2.9.3. 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), seguida 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 Pg./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 Pg./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 (Nagata et col. 2005).

2.10. EFECTOS DEL CADMIO SOBRE LA SALUD.

El Cadmio puede ser encontrado mayoritariamente en la corteza terrestre. Este siempre ocurre en combinación con el Zinc. El Cadmio también consiste en las industrias como inevitable subproducto del Zinc, plomo y cobre extracciones. Después de ser aplicado este entra en el ambiente mayormente a través del suelo, porque es encontrado en estiércoles y pesticidas. La

toma por los humanos de Cadmio tiene lugar mayormente a través de la comida. Los alimentos que son ricos en Cadmio pueden en gran medida incrementar la concentración de Cadmio en los humanos. Ejemplos son patés, champiñones, mariscos, mejillones, cacao y algas secas. Una exposición a niveles significativamente altas ocurren cuando la gente fuma. El humo del tabaco transporta el Cadmio a los pulmones. La sangre transportará el Cadmio al resto del cuerpo donde puede incrementar los efectos por potenciación del Cadmio que está ya presente por comer comida rico en Cadmio. Otra alta exposición puede ocurrir con gente que vive cerca de los vertederos de residuos peligrosos o fábricas que liberan Cadmio en el aire y gente que trabaja en las industrias de refinerías del metal. Cuando la gente respira el Cadmio este puede dañar severamente los pulmones. Esto puede incluso causar la muerte. El Cadmio primero es transportado hacia el hígado por la sangre. Allí es unido a proteínas para formar complejos que son transportados hacia los riñones. El Cadmio se acumula en los riñones, donde causa un daño en el mecanismo de filtración. Esto causa la excreción de proteínas esenciales y azúcares del cuerpo y el consecuente daño de los riñones. Lleva bastante tiempo antes de que el Cadmio que ha sido acumulado en los riñones sea excretado del cuerpo humano (Koyama, Kitoh and Tohyama, 2002).

Otros efectos sobre la salud que pueden ser causados por el Cadmio son:

- ✓ Diarreas, dolor de estómago y vómitos severos
- ✓ Fractura de huesos
- ✓ Fallos en la reproducción y posibilidad incluso de infertilidad
- ✓ Daño al sistema nervioso central
- ✓ Daño al sistema inmune
- ✓ Desordenes psicológicos
- ✓ Posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer (Koyama, Kitoh and Tohyama, 2002).

2.11. EFECTOS AMBIENTALES DEL CADMIO.

De forma natural grandes cantidades de Cadmio son liberadas al ambiente, sobre 25.000 toneladas al año. La mitad de este Cadmio es liberado en los ríos a través de la descomposición de rocas y algún Cadmio es liberado al aire a través de fuegos forestales y volcanes. El resto del Cadmio es liberado por las actividades humanas, como es la manufacturación. Las aguas residuales con Cadmio procedentes de las industrias

mayoritariamente terminan en los suelos. Las causas de estas corrientes de residuos son por ejemplo la producción de Zinc, minerales de fosfato y las bioindustrias del estiércol. El Cadmio de las corrientes residuales puede también entrar en el aire a través de la quema de residuos urbanos y de la quema de combustibles fósiles. Debido a las regulaciones sólo una pequeña cantidad de Cadmio entra ahora en el agua a través del vertido de aguas residuales de casas o industrias. Otra fuente importante de emisión de Cadmio es la producción de fertilizantes fosfatados artificiales. Parte del Cadmio terminará en el suelo después de que el fertilizante es aplicado en las granjas y el resto del Cadmio terminará en las aguas superficiales cuando los residuos del fertilizante son vertidos por las compañías productoras (Torreblanca, 1993).

El Cadmio puede ser transportado a grandes distancias cuando es absorbido por el lodo. Este lodo rico en Cadmio puede contaminar las aguas superficiales y los suelos. El Cadmio es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo. Cuando el Cadmio está presente en el suelo este puede ser extremadamente peligroso, y la toma a través de la comida puede incrementar. Los suelos que son ácidos aumentan la toma de Cadmio por las plantas. Esto es un daño potencial para los animales que dependen de las plantas para sobrevivir. El Cadmio puede acumularse en sus cuerpos, especialmente cuando estos comen muchas plantas diferentes. Las vacas pueden tener grandes cantidades de Cadmio en sus riñones debido a esto.

Las lombrices y otros animales esenciales para el suelo son extremadamente sensibles al envenenamiento por Cadmio. Pueden morir a muy bajas concentraciones y esto tiene consecuencias en la estructura del suelo. Cuando las concentraciones de Cadmio en el suelo son altas esto puede influir en los procesos del suelo de microorganismos y amenazar a todo el ecosistema del suelo. En ecosistemas acuáticos el Cadmio puede bioacumularse en mejillones, ostras, gambas, langostas y peces. La susceptibilidad al Cadmio pueden variar ampliamente entre organismos acuáticos. Organismos de agua salada se sabe que son más resistentes al envenenamiento por Cadmio que organismos de agua dulce. Animales que comen o beben Cadmio algunas veces tienen la presión sanguínea alta, daños del hígado y daños en nervios y el cerebro (Alexander and Meltzer, 1995).

2.12. TOXICIDAD DEL CADMIO.

El cadmio es un metal pesado que produce efectos tóxicos en los organismos vivos, aun en concentraciones muy pequeñas. La exposición al cadmio en los humanos se produce generalmente a través de dos fuentes principales: la primera es la vía oral (por agua e ingestión de alimentos contaminados.) La segunda vía es por inhalación. La población fumadora es la más expuesta al cadmio, porque los cigarrillos lo contienen (Taylor, 1983).

Algunos órganos vitales son blanco de la toxicidad del cadmio. En organismos sobreexposados, el cadmio ocasiona graves enfermedades al actuar sobre dichos órganos. Existen actualmente algunas descripciones de posibles mecanismos de toxicidad del cadmio. Sin embargo, la implicación real que este elemento tiene como agente tóxico ha sido poco estudiada, por lo que se considera que debe ser monitoreado. Es de gran importancia llevar a cabo estudios para profundizar en los factores de riesgo y así realizar medidas preventivas en la población. La aplicación de ciertos fertilizantes o de excremento de animales en el suelo destinado al cultivo de alimentos puede aumentar su nivel de cadmio lo cual, a su vez, causa un aumento en el nivel de cadmio de los productos. El cadmio no se encuentra en cantidades preocupantes en el agua; sin embargo, puede contaminarla cuando ésta viaja a través de las tuberías (que muchas veces están soldadas con materiales que lo contienen) o cuando entra en contacto con desechos químicos (Torreblanca, 1993).

La fuente más importante de descarga de cadmio al medio ambiente es la quema de combustibles fósiles (como carbón o petróleo) o la incineración de la basura doméstica común. El cadmio también contamina el aire cuando se funden rocas para extraer zinc, cobre o plomo. Trabajar o vivir cerca de una de estas fuentes contaminantes puede resultar en una sobreexposición al cadmio.

Fumar es otra importante fuente de cadmio. Como muchas plantas, el tabaco contiene cadmio, algo del cual es inhalado en el humo. Muchos fumadores tienen alrededor del doble de cadmio en sus organismos que los no fumadores. El cadmio entra al torrente sanguíneo por absorción en el estómago o en los intestinos luego de la ingestión de comida o agua, o por absorción en los pulmones después de la inhalación. Muy poco cadmio entra al cuerpo a través de la piel. Usualmente sólo es absorbido por la sangre alrededor del 1 al 5% del cadmio que es ingerido por la boca, mientras que se absorbe alrededor del 30 al 50% del que es inhalado (Taylor, 1983).

Un fumador que consuma un paquete de cigarrillos por día puede absorber, durante ese lapso, casi el doble del cadmio absorbido por un no fumador. De cualquier forma, una vez que el cadmio se absorbe es fuertemente retenido; así que incluso bajas dosis de este metal pueden constituir un nivel significativo en el organismo si la exposición se prolonga durante un largo periodo. Una vez absorbido el cadmio, es transportado por el torrente circulatorio hasta el hígado, en donde se une a una proteína de bajo peso molecular. Pequeñas cantidades de ese complejo proteína-cadmio pasan continuamente del hígado al torrente sanguíneo, para ser transportado a los riñones y filtrado a través de los glomérulos, para posteriormente ser reabsorbido y almacenado en las células tubulares del riñón. Este último órgano excreta del 1 al 2% del cadmio tomado directamente de las fuentes ambientales, lo que provoca una gran acumulación de cadmio en los riñones. La concentración del metal en el riñón es aproximadamente 10 mil veces más alta que en el torrente sanguíneo. La excreción fecal del metal representa una mínima cantidad de cadmio no absorbido en el sistema gastrointestinal. Por otra parte, se estima que la vida biológica del cadmio en los humanos varía entre 13 y 40 años (Taylor, 1983).

Causan mayor preocupación los efectos de las exposiciones bajas al cadmio y a largo plazo. Algunos efectos de varios niveles y duraciones de exposición son los siguientes: En personas que han estado expuestas a un exceso de cadmio en su dieta o por el aire se ha observado un daño en los riñones. Esta enfermedad renal normalmente no es mortal, pero puede ocasionar la formación de cálculos y sus efectos en el sistema óseo se manifiestan a través de dolor y debilidad. En trabajadores de fábricas, en donde el nivel de concentración de cadmio en el aire es alto, han sido observados severos daños en los pulmones, tales como enfisema. En animales expuestos durante largos periodos al cadmio por inhalación, se ha observado la aparición de cáncer de pulmón. Estudios en seres humanos también sugieren que una inhalación prolongada de cadmio puede resultar en incrementar el riesgo de contraer cáncer pulmonar, como en el caso de los fumadores. No hay evidencia de que la ingestión de cadmio por la vía oral sea causante de cáncer (Torreblanca, 1993).

Ha sido también observada alta presión arterial en animales expuestos al cadmio. Aún no se sabe si la exposición al cadmio desempeña un papel importante en la hipertensión humana. Otros tejidos también son dañados por exposición al cadmio (en animales o humanos) incluyendo al hígado, los testículos, el sistema inmunológico, el sistema nervioso y la sangre.

Efectos en la reproducción y el desarrollo han sido observados en animales expuestos al cadmio, pero no han sido reportados aún en seres humanos (Frery et col, 1993).

2.13. ANÁLISIS PROBIT¹ .

El procedimiento Análisis Probit está diseñado para ajustar un modelo de regresión en el cual la variable dependiente Y caracteriza un evento con sólo dos posibles resultados. Se pueden modelados dos tipos de datos:

1. Datos en los que Y consiste en un conjunto de 0's y 1's, donde 1 representa la ocurrencia de uno de los dos resultados.
2. Datos en los cuales Y representa la proporción de veces que ocurre uno de los dos resultados.

El modelo de regresión relaciona a Y con una o más variables predictoras X, que pueden ser cuantitativas o categóricas. En este procedimiento, se asume que la probabilidad de un evento está relacionada con los predictores a través de la función probit. El procedimiento Regresión Logística puede usarse para ajustar el mismo tipo de datos pero emplea una forma funcional diferente.

El procedimiento ajusta un modelo usando máxima verosimilitud o mínimos cuadrados ponderados. La selección por pasos de variables es una opción. Para probar la significancia de los coeficientes del modelo se realizan pruebas de cociente de verosimilitud. Se puede graficar el modelo ajustado y predicciones generados a partir del mismo. Se identifican y grafican residuos atípicos. Dado que el procedimiento Análisis Probit es análogo al de Regresión Logística, debe remitirse a la documentación de éste último para una descripción detallada de las diferentes opciones².

¹ <http://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/Analisis%20Probit.pdf>

² <http://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/Analisis%20Probit.pdf>

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. LUGAR DE REALIZACIÓN.

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Ecología y Bioensayos de la carrera de Ingeniería Acuícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Machala, localizada en la Granja Sta. Inés del Cantón Machala, Provincia de El Oro.

3.1.1. EQUIPOS Y MATERIALES.

3.1.1.1. Materiales de Laboratorio.

- ✓ Agua destilada
- ✓ Aireadores
- ✓ Acuarios de 1000, 2000 ml
- ✓ Agua de mar y agua dulce
- ✓ Baldes plásticos de 20 litros
- ✓ Beaker graduados de 1000 ml
- ✓ Calculadora
- ✓ Envases plásticos herméticos
- ✓ Erlenmeyer de 100 ml
- ✓ Filtros para aclimatación de larvas
- ✓ Larvas de camarón y alevines de peces
- ✓ Pipetas graduadas de 1ml
- ✓ Placas porta y cubre objetos
- ✓ Protectores de cubierta de acuarios
- ✓ Tanque de 200 litros
- ✓ Termómetro
- ✓ Solución buffer

3.1.2. MATERIALES DE CAMPO.

3.1.2.1. Equipos.

- ✓ Estereoscopio
- ✓ Potenciómetro
- ✓ Oxigenómetro
- ✓ Balanza de precisión
- ✓ Cámara Fotográfica
- ✓ Computador

3.1.2.2 Reactivos.

- ✓ Acetato de Cadmio

3.1.2.3 Insumos.

- ✓ Guantes
- ✓ Hojas de control
- ✓ Libreta de apuntes
- ✓ Marcadores permanentes
- ✓ Papel aluminio

3.1.3. MUESTRA.

Para el presente trabajo de investigación se usaron diez ejemplares de juveniles *Litopenaeus vannamei* y diez alevines de tilapia roja *Oreochromis sp.* por acuario.

3.1.4. VARIABLES EN ESTUDIO.

Dentro de esta investigación se tomaron las siguientes variables:

- ✓ Concentración del cadmio
- ✓ Supervivencia

3.1.5. MEDICIÓN DE LAS VARIABLES.

Las variables estudiadas fueron:

- ✓ Concentración del Cadmio.- La medición de esta variable fue en base a la distribución de las soluciones de acetato de cadmio descritas en la tabla 5.
- ✓ Sobrevivencia.- Esta variable se midió tomando en cuenta el número de ejemplares sobrevivientes por cada acuario.

3.2. MÉTODOS.

3.2.1. MÉTODO DE ESTIMACIÓN DEL CL₅₀-96 horas.

3.2.1.1. Determinación de la Concentración Letal media CL₅₀.

Para el método de estimación del CL₅₀ se registraron las cantidades de animales sobrevivientes a concentraciones algo superiores e inferiores del límite, para que así el CL₅₀ se pueda estimar por interpolación gráfica.

3.2.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.

Primeramente se escogieron los mejores ejemplares de juveniles *Litopenaeus vannamei* y alevines *Oreochromis spp* procurando en lo posible uniformidad en su talla, se procedió a colocarlos en acuarios separados, aclimatándolos en sus parámetros físico-químicos de tal manera que no existieron mortalidades inmediatas por estrés del animal. Una vez que los animales de prueba se encontraron completamente aclimatados a las condiciones de laboratorio impuestas, se procedió de la siguiente manera:

Se utilizaron 10 acuarios de plástico de 2 litros, a cada uno de los acuarios se colocaron el 100% de agua cuyas características físico-químicas fueron similares a las del medio usado en la aclimatación de los animales, verificando el valor de temperatura y pH del agua seleccionada.

3.2.4. PREPARACIÓN DE CONCENTRACIONES.

A partir de la solución estándar de acetato de cadmio (CH₃COO)₂Cd·2H₂O (1 ml = 1 mg de Cd), cada mililitro de la solución de acetato de cadmio es equivalente a 1 mg de cadmio. Dosificaremos las siguientes concentraciones de cadmio a cada uno de los acuarios de 1 litro, repitiendo el proceso cuatro veces.

Tabla 5.- Distribución de soluciones de acetato de cadmio en acuarios número.

NUMERO DE ACUARIOS	SOLUCION DE ACETATO DE CADMIO
Acuario # 1	0,00 mg/1 Cd
Acuario # 2	0,20 mg/1 Cd
Acuario # 3	0,30 mg/1 Cd
Acuario # 4	0,40 mg/1 Cd
Acuario # 5	0,50 mg/1 Cd
Acuario # 6	0,60 mg/1 Cd
Acuario # 7	0,70 mg/1 Cd
Acuario # 8	0,80 mg/1 Cd
Acuario # 9	0,90 mg/1 Cd
Acuario # 10	1,00 mg/1 Cd

3.2.5. SIEMBRA DE JUVENILES.

Una vez agregada y mezcladas las correspondientes dosis de Acetato de Cadmio, a cada uno de los acuarios, se transfirieron con mucho cuidado 10 alevines y 10 camarones elegidos entre aquellos que se encontraron en cada uno de los tanques de aclimatación respectivos. Hay que tomar en cuenta, que en caso de lesionarse algún camarón o alevín durante el traspaso, se lo desecho inmediatamente y se lo reemplazó por uno sano.

3.2.6. ESTIMACIÓN DE RESULTADOS.

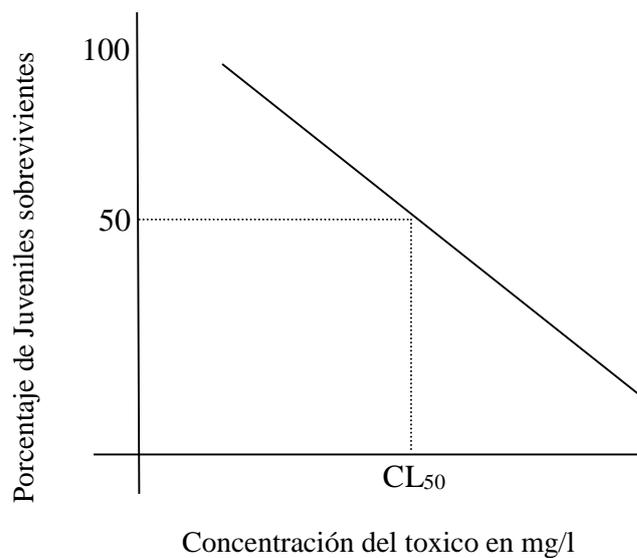
A partir de la solución estándar de Acetato de Cadmio, se dosificaron las cantidades de Cadmio especificadas en la Tabla 5. Se tomó nota del comportamiento de los animales sometidos durante el bioensayo. Los animales de prueba no recibieron ningún tipo de alimento durante el tiempo que duro la prueba. Las observaciones con respecto al número de camarones y alevines sobrevivientes se realizaron después de cumplirse los periodos de 24, 48, 72 y 96 horas.

3.2.7. EVALUACIÓN.

De la mortalidad obtenida en la prueba, se extrapolaron los respectivos valores del CL₅₀ en los tiempos y condiciones especificadas por la prueba, comparando, los resultados obtenidos e interpretando la toxicidad del Acetato de Cadmio en larvas de camarones y alevines de peces.

3.2.8. GRAFICO DE RESULTADOS.

Para graficar los resultados a las 24, 48, 72 y 96 horas de prueba, se tomó el número de animales sobrevivientes en cada una de las concentraciones de Acetato de Cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y se calculó su porcentaje de sobrevivencia. Estos resultados se interpolaron con el valor de concentración de tal manera, que a cada porcentaje de sobrevivencia le correspondió la concentración a la cual sobrevivieron los ejemplares.



3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.

La Concentración Letal media o CL₅₀ fue la resultante del trazo del intercepto entre el 50% de los sobrevivientes con la recta trazada, a lo cual le correspondió un valor en la escala logarítmica.

Los resultados del bioensayo se recopilaron en un cuaderno de apuntes, siendo posteriormente ingresados en la aplicación informática Microsoft Excel para proceder a los cálculos correspondientes.

3.3.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico aplicado en el presente trabajo de investigación para determinar los valores de la Concentración Metal media (CL₅₀) fue el Método Probit.

3.3.1.1. Descripción del Método Probit.

El Método Probit se utiliza comúnmente en la toxicología para determinar la toxicidad relativa de los productos químicos para los organismos vivos. Esto se realiza mediante pruebas de la respuesta de un organismo bajo diversas concentraciones de cada uno de los productos químicos en cuestión. La respuesta es siempre binomial (por ejemplo, la muerte / la no muerte) y la relación entre la respuesta y las diversas concentraciones es siempre una sigmoide. El Análisis Probit actúa como una transformación de una curva sigmoide a una línea y luego se ejecuta una regresión en la relación.

3.3.1.2. Análisis Probit.

Al realizar las pruebas de toxicidad aguda, se obtienen las siguientes variables para el cálculo de la CL₅₀:

1. Concentración de la sustancia o dosis (d).
2. Número de individuos (n).
3. Numero de organismos muertos o afectados (r).
4. Porcentaje de efecto (p).

$$p = \left(\frac{r}{n}\right) \times 100$$

La representación gráfica de p vs. d , o relación dosis-respuesta, genera una curva parabólica que muchas veces presenta dificultades en la construcción de un modelo lineal. Una forma de abordar este problema es transformando d a una escala logarítmica ($X = \log_{10}(d)$), lo cual mostrará una relación dosis-respuesta de forma S o sigmoidea normal; de esta manera la distribución de p vs. X será de tipo normal.

Posteriormente, mediante las tablas de Probit se transforma p (porcentaje de efecto) a unidades Probit, se obtiene una distribución de puntos en un sistema bivariado de tipo lineal, los cuales se procesan según un análisis de regresión típico. Vale la pena enfatizar que el Probit es una transformación sobre la tasa de efecto (p), y la ecuación generada es de la forma:

$$y = a + bx$$

Donde

a = intercepción en y

b = pendiente de la línea

Para facilitar los cálculos, simplemente se puede usar un software como el suministrado por la US Environmental Protection Agency (US EPA): Probit Analysis Program.

3.3.1.3. Estimación de la concentración letal media (CL₅₀).

A cada volumen de la solución patrón se aplicó la transformación logarítmica, luego se asignó el valor Probit de tablas respecto al porcentaje de mortalidad obtenido para cada tratamiento, en la cual se representó en el eje de las X el logaritmo transformada de los diferentes volúmenes de la solución, y en el eje de la Y los valores Probit, a partir de una recta trazada se aplicó el punto de corte correspondiente al 50% del efecto observado y se obtuvo la CL₅₀ transformado a una concentración y expresado en mg/l.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. PRUEBA TOXICIDAD EN ALEVINES DE TILAPIA.

4.1.1. SOBREVIVENCIA DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis sp.*).

En la tabla 6 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en alevines de tilapia roja reflejados en la sobrevivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el tratamiento uno.

Tabla 6.- Sobrevivencia de peces de tilapia roja *Oreochromis sp.*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en la primera repetición.

Concentraciones	N° de Amínales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	9	8	6	2
0,30 mg/l	10	8	7	4	1
0,40 mg/l	10	7	6	4	1
0,50 mg/l	10	5	4	4	-
0,60 mg/l	10	4	3	2	-
0,70 mg/l	10	4	3	2	-
0,80 mg/l	10	4	3	2	-
0,90 mg/l	10	3	2	1	-
1,00 mg/l	10	2	1	-	-

La mayor cantidad de alevines resultaron muertos en la concentración de 1.0 mg/l de Acetato de Cadmio, mientras que en los tratamientos de 0.20 a 0.50 mg/l fue menor la mortalidad.

En la tabla 7 se muestra la determinación del CL_{50} de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ por medio estadístico Probit en el tratamiento uno con alevines de tilapia roja.

Tabla 7.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en tratamiento uno con alevines de tilapia roja.

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	Nº Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	1	10%	3,72
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	2	20%	4,16
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	3	30%	4,48
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	5	50%	5,00
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	6	60%	5,25
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	6	60%	5,25
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	6	60%	5,25
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	7	70%	5,52
1,00 mg/l	2	0,3010	10	8	80%	5,84

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 15,805x + 1,6259$$

$$5 = 15,805x + 1,6259$$

$$x = \frac{5 - 1,6259}{15,805}$$

$$x = \frac{3,3741}{15,805}$$

$$x = 0,21348$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,21348) = 1,6348$$

$$CL_{50} = 1,6348 - 1$$

$$CL_{50} = 0,63 \text{ mg/l } (\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}_2\text{H}_2\text{O}$$

La Concentración Letal media CL₅₀ en el primer tratamiento fue de 0.63 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 1 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 79% del 50% de la mortalidad de los organismos.

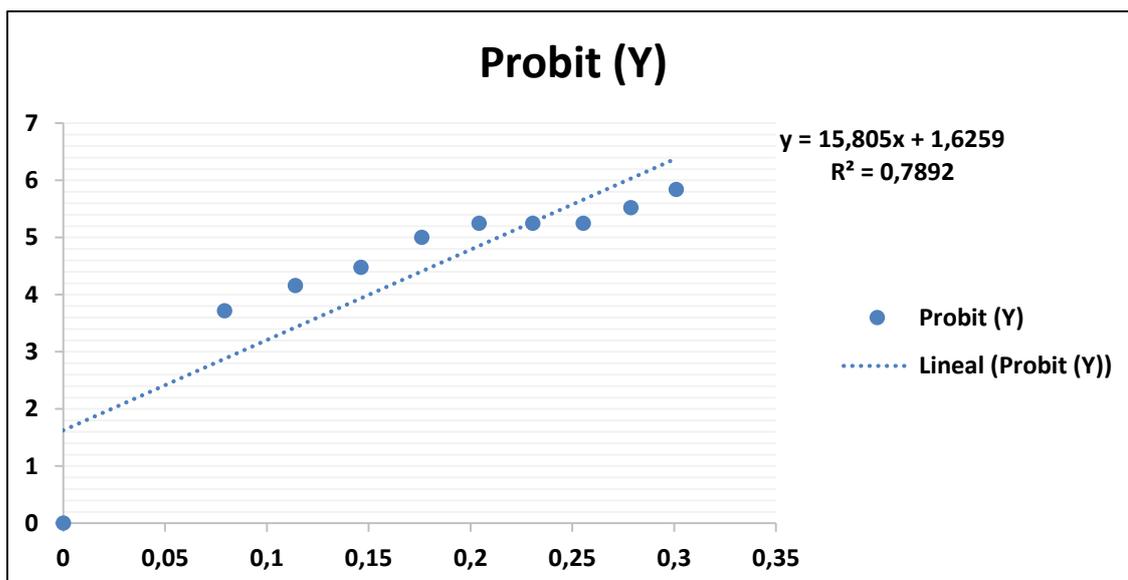


Figura 1.- Supervivencia de alevines expuestos al bioensayo en la primera repetición.

En la tabla 8 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en alevines de tilapia roja reflejados en la supervivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el tratamiento dos.

Tabla 8.- Supervivencia de peces de tilapia roja *Oreochromis sp.*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en la segunda repetición.

Concentraciones	N° de Animales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	9	9	6	1
0,30 mg/l	10	7	7	3	1
0,40 mg/l	10	5	5	3	1
0,50 mg/l	10	4	4	2	-
0,60 mg/l	10	3	3	1	-
0,70 mg/l	10	3	3	1	-
0,80 mg/l	10	3	3	1	-
0,90 mg/l	10	2	2	-	-
1,00 mg/l	10	1	1	-	-

En la tabla 9 se muestra la determinación del CL_{50} de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ por medio estadístico Probit en el tratamiento dos con alevines de tilapia roja.

Tabla 9.- Determinación de CL50 de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}2\text{H}_2\text{O}$ por medio del Probit en tratamiento dos con alevines de tilapia roja

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	N° Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	1	10%	3,72
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	3	30%	4,48
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	5	50%	5
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	6	60%	5,25
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	7	70%	5,52
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	7	70%	5,52
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	7	70%	5,52
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	8	80%	5,84
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}2\text{H}_2\text{O}$, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 16,907x + 1,6951$$

$$5 = 16,907x + 1,6951$$

$$x = \frac{5 - 1,6951}{16,907}$$

$$x = \frac{3,3049}{16,907}$$

$$x = 0,19547$$

$$\text{CL}_{50} = \text{Anti log}(0,19547) = 1,5684$$

$$\text{CL}_{50} = 1,5684 - 1$$

$$\text{CL}_{50} = 0,57 \text{ mg/l } (\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}2\text{H}_2\text{O}$$

La Concentración Letal media CL_{50} en el tratamiento uno fue de 0.57 mg/l $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}2\text{H}_2\text{O}$.

En la figura 2 se muestra el coeficiente de determinación (R^2) indica que la concentración de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd}2\text{H}_2\text{O}$ influye en el 79% del 50% de la mortalidad de los organismos.

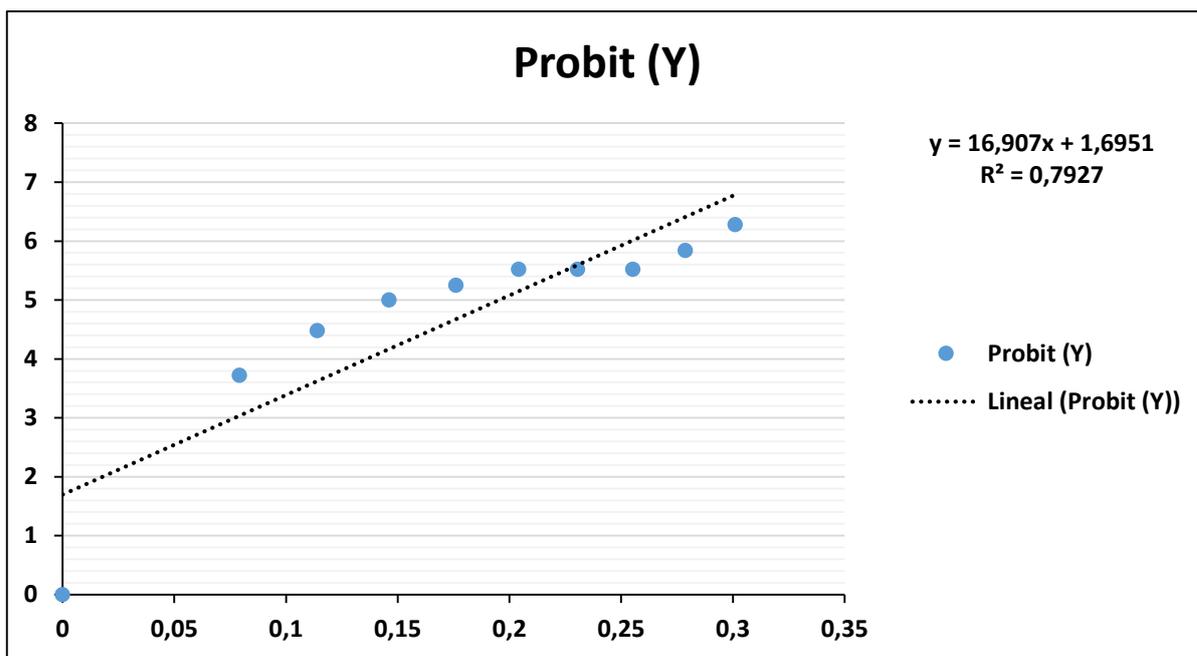


Figura 2.- Supervivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la segunda repetición.

En la tabla 10 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ en alevines de tilapia roja reflejados en la supervivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el tratamiento tres.

Tabla 10.- Supervivencia de peces de tilapia roja *Oreochromis sp.*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ en la tercera repetición.

Concentraciones	N° de Animales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	9	9	6	1
0,30 mg/l	10	7	7	3	1
0,40 mg/l	10	5	5	3	1
0,50 mg/l	10	4	4	2	-
0,60 mg/l	10	3	3	1	-
0,70 mg/l	10	3	3	1	-
0,80 mg/l	10	3	3	1	-
0,90 mg/l	10	2	2	-	-
1,00 mg/l	10	1	1	-	-

En la tabla 11 se muestra la determinación del CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en el tratamiento tres con alevines de tilapia roja.

Tabla 11.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio del Probit en tratamiento tres con alevines de tilapia roja

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	Nº Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	1	10%	3,72
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	3	30%	4,48
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	5	50%	5
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	6	60%	5,25
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	7	70%	5,52
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	7	70%	5,52
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	7	70%	5,52
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	8	80%	5,84
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 16,906x + 1,6955$$

$$5 = 16,906x + 1,6955$$

$$x = \frac{5 - 1,6955}{16,906}$$

$$x = \frac{3,1992}{16,906}$$

$$x = 0,19546$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,20242) = 1,5937$$

$$CL_{50} = 1,5684 - 1$$

$$CL_{50} = 0,57 \text{ mg/l } (CH_3COO)_2Cd_2H_2O$$

La Concentración Letal media CL₅₀ en del tercer tratamiento fue de 0.57 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 3 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 79% del 50% de la mortalidad de los organismos.

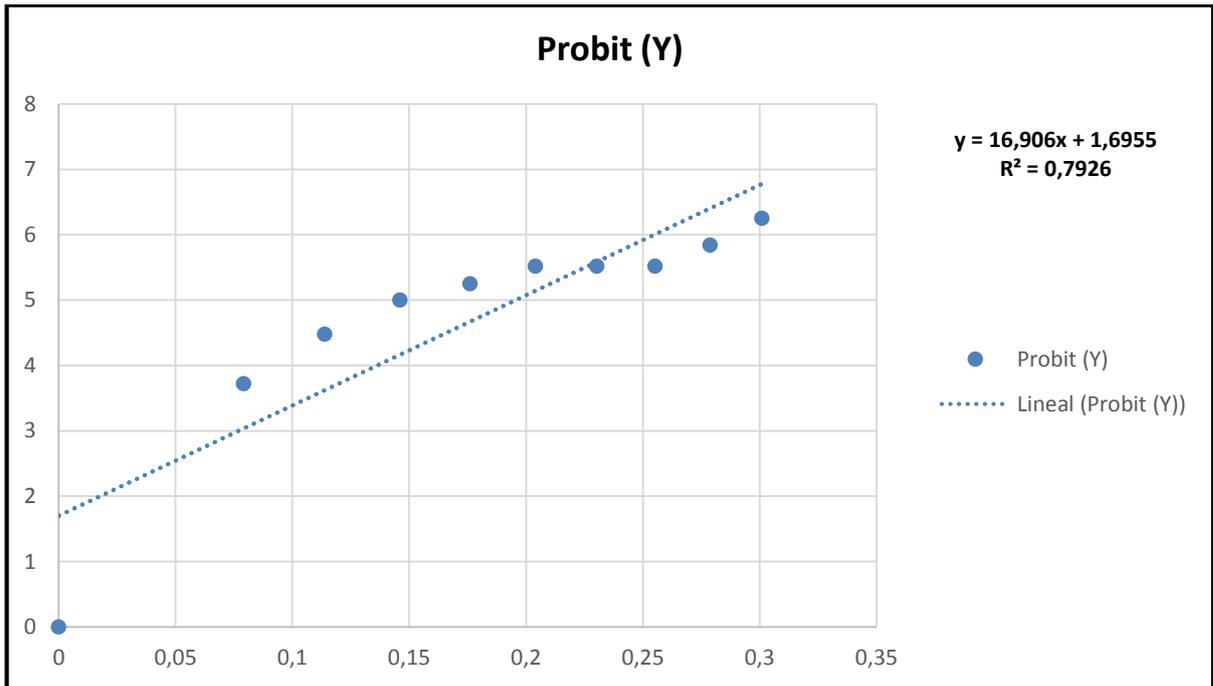


Figura 3.- Supervivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la tercera repetición.

En la tabla 12 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en alevines de tilapia roja reflejados en la supervivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el cuarto tratamiento.

Tabla 12.- Supervivencia de peces de tilapia roja *Oreochromis sp.*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en la cuarta repetición.

Concentraciones	Nº de Animales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	9	6	6	1
0,30 mg/l	10	7	6	2	1
0,40 mg/l	10	5	6	1	-
0,50 mg/l	10	4	5	1	-
0,60 mg/l	10	3	1	1	-
0,70 mg/l	10	3	1	-	-
0,80 mg/l	10	3	1	-	-
0,90 mg/l	10	2	1	-	-
1,00 mg/l	10	1	-	-	-

En la tabla 13 se muestra la determinación del CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en el cuarto tratamiento con alevines de tilapia roja.

Tabla 13.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio del Probit en el cuarto tratamiento con alevines de tilapia roja.

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	N° Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	1	10%	3,72
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	3	30%	4,48
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	5	50%	5,00
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	6	60%	5,25
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	7	70%	5,52
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	7	70%	5,52
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	7	70%	5,52
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	9	90%	6,28
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 17,45x + 1,6422$$

$$5 = 17,45x + 1,6422$$

$$x = \frac{5 - 1,6422}{17,45}$$

$$x = \frac{3,3578}{17,45}$$

$$x = 0,19242$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,19242) = 1,5574$$

$$CL_{50} = 1,5574 - 1$$

$$CL_{50} = 0,56 \text{ mg/l } (CH_3COO)_2Cd_2H_2O$$

La Concentración Letal media CL₅₀ en el cuarto tratamiento fue de 0.56 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 4 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 81% del 50% de la mortalidad de los organismos.

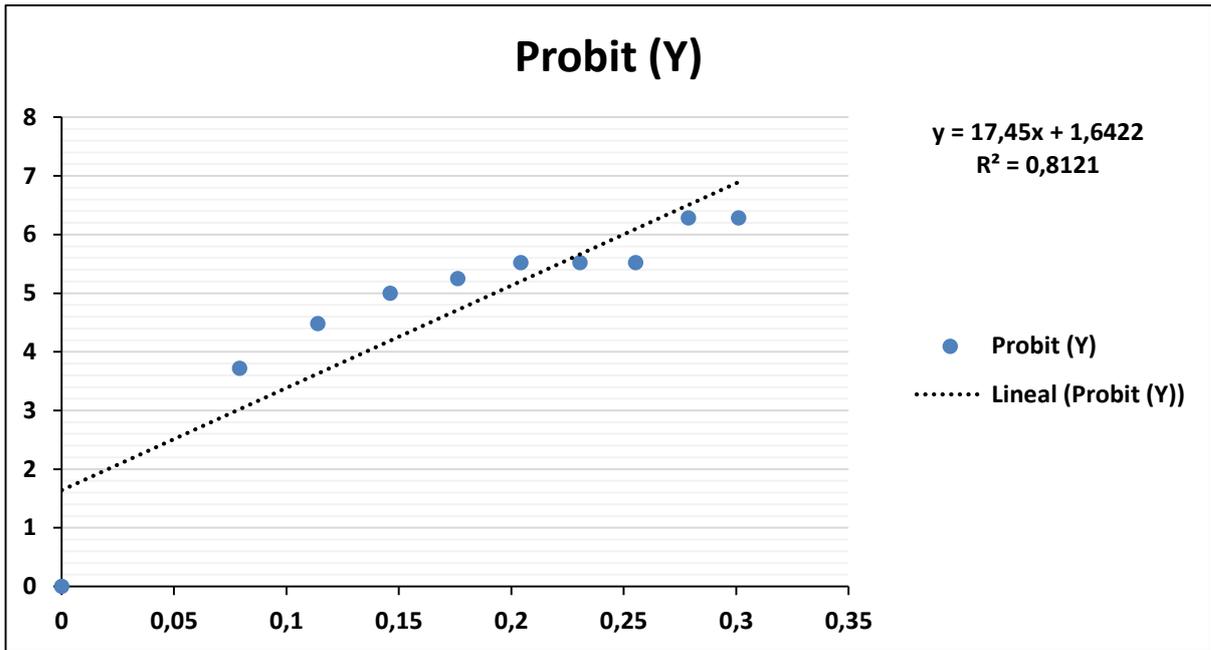


Figura 4.- Sobrevivencia de alevines expuestos a al bioensayo en la cuarta repetición.

4.2. PARAMETROS DEL ENSAYO CON ALEVINES DE TILIPIA ROJA

Oreochromis sp.

4.2.1. PARAMETROS A LAS 24 HORAS.

En la tabla 14 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomados durante el ensayo con acetato de cadmio en 24 horas.

Tabla 14.- Parámetros obtenidos a 24 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,55	25	4
0,20 mg/l	7,59	25,1	4,1
0,30 mg/l	7,52	25,2	4,5
0,40 mg/l	7,54	25	4,7
0,50 mg/l	7,53	25,3	4
0,60 mg/l	7,55	25,1	4,1
0,70 mg/l	7,52	25	4,3
0,80 mg/l	7,51	25,1	4,1
0,90 mg/l	7,54	25,3	4
1,00 mg/l	7,59	25,2	4,5
\bar{x}	7,54	25,1	4,1

4.2.2. PARAMETROS A LAS 48 HORAS.

En la tabla 15 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomados durante el ensayo con acetato de cadmio en 48 horas.

Tabla 15.- Parámetros obtenidos a 48 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,15	24,1	4,1
0,20 mg/l	7,1	24,4	3,9
0,30 mg/l	7,08	24,3	4
0,40 mg/l	7,15	24,5	4,3
0,50 mg/l	7,2	24,1	4,5
0,60 mg/l	7,19	24,7	3,8
0,70 mg/l	7,21	14,2	3,9
0,80 mg/l	7,25	24,4	4,5
0,90 mg/l	7,29	24,6	4,7
1,00 mg/l	7,13	24,5	4
\bar{x}	7,17	24,4	4,05

4.2.3. PARAMETROS A LAS 72 HORAS.

En la tabla 16 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomados durante el ensayo con acetato de cadmio en 72 horas.

Tabla 16.- Parámetros obtenidos a 72 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,1	24,5	3,8
0,20 mg/l	7,8	24,2	3,6
0,30 mg/l	7,1	24,4	3,5
0,40 mg/l	7,7	24,6	3,9
0,50 mg/l	7,15	24,5	3,7
0,60 mg/l	7,13	24,3	3,8
0,70 mg/l	7,15	24,1	3,5
0,80 mg/l	7,1	24,1	3,4
0,90 mg/l	7,12	24,5	3,6
1,00 mg/l	7,14	24,8	3,9
\bar{x}	7,14	24,45	3,65

4.2.4. PARAMETROS A LAS 96 HORAS.

En la tabla 17 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomados durante el ensayo con acetato de cadmio en 96 horas.

Tabla 17.- Parámetros obtenidos a 96 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,1	24	3,5
0,20 mg/l	7	24,1	3,4
0,30 mg/l	6,9	24	3,3
0,40 mg/l	6,9	24	3,3
0,50 mg/l	6,8	24,1	3,2
0,60 mg/l	6,8	24,1	3,2
0,70 mg/l	6,6	24,1	3,1
0,80 mg/l	6,5	23,2	3,1
0,90 mg/l	6,4	23,2	3
1,00 mg/l	6,1	23,1	3
\bar{x}	6,8	24	3,2

4.3. PRUEBA DE TOXICIDAD EN CAMARONES JUVENILES.

4.3.1. SOBREVIVENCIA EN CAMARONES JUVENILES *Litopenaeus vannamei*.

En la tabla 18 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ en larvas de camarones *Litopenaeus vannamei* reflejados en la sobrevivencia a 24, 48, 72 y 96 horas.

Tabla 18.- Sobrevivencia de las larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ en la primera repetición.

Concentraciones	Nº de Amínales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	9	7	5	3
0,30 mg/l	10	9	7	4	1
0,40 mg/l	10	9	6	3	-
0,50 mg/l	10	5	5	2	-
0,60 mg/l	10	5	3	1	-
0,70 mg/l	10	5	3	-	-
0,80 mg/l	10	4	2	-	-
0,90 mg/l	10	3	1	-	-
1,00 mg/l	10	1	-	-	-

En la tabla 19 se muestra la determinación del CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en el tratamiento uno con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Tabla 19.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en tratamiento uno con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	Nº Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	1	10%	3,72
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	1	10%	3,72
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	1	10%	3,72
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	5	50%	5,00
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	5	50%	5,00
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	5	50%	5,00
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	6	60%	5,25
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	7	70%	5,52
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 16,882x + 1,3076$$

$$5 = 16,882x + 1,3076$$

$$x = \frac{5 - 1,3076}{16,882}$$

$$x = \frac{3,6924}{16,882}$$

$$x = 0,2187$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,2187) = 1,6546$$

$$CL_{50} = 1,6546 - 1$$

$$CL_{50} = 0,65 \text{ mg/l } (CH_3COO)_2Cd_2H_2O$$

La Concentración Letal media CL₅₀ en el primer tratamiento con larvas de camarones fue de 0.65 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 5 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 85% del 50% de la mortalidad de los organismos.

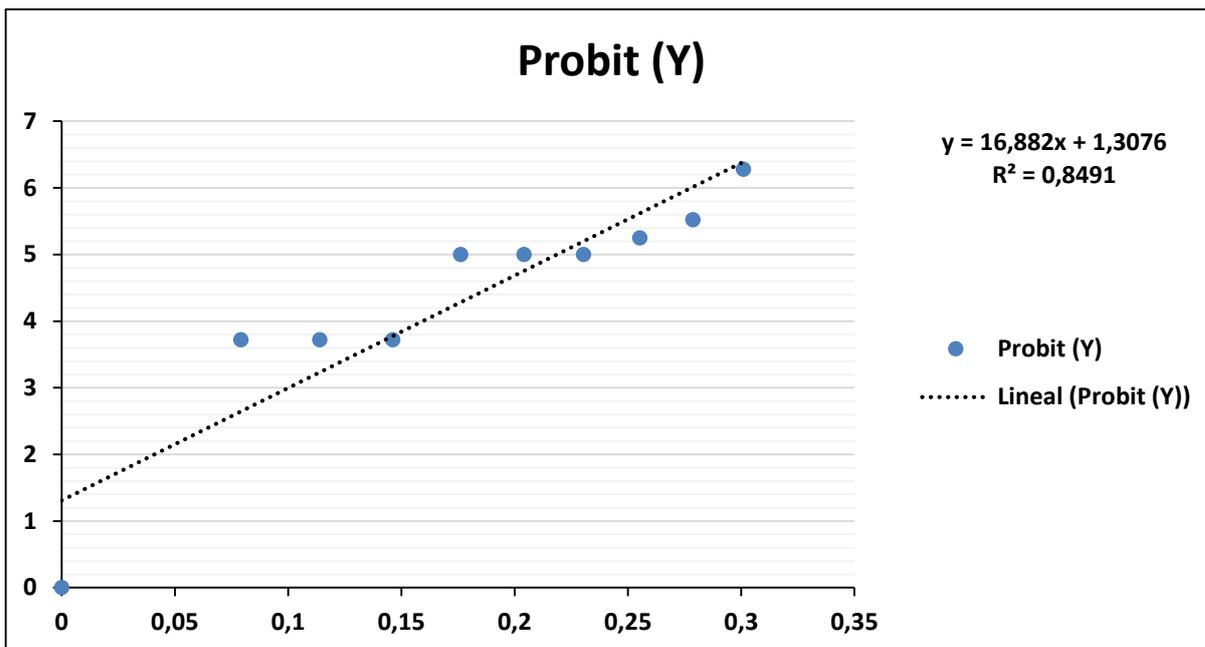


Figura 5.- Sobrevivencia de las larvas de camarón expuestas al bioensayo en la primera repetición.

En la tabla 20 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ con las larvas de camarón, reflejados en la sobrevivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el segundo tratamiento.

Tabla 20.- Sobrevivencia de las larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en la segunda repetición.

Concentraciones	Nº de Animales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	8	7	5	2
0,30 mg/l	10	7	6	3	1
0,40 mg/l	10	6	5	2	-
0,50 mg/l	10	5	4	1	-
0,60 mg/l	10	5	2	1	-
0,70 mg/l	10	4	2	-	-
0,80 mg/l	10	4	1	-	-
0,90 mg/l	10	2	-	-	-
1,00 mg/l	10	1	-	-	-

En la tabla 21 se muestra la determinación del CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en el segundo tratamiento con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Tabla 21.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en tratamiento dos con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	Nº Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	2	20%	4,16
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	3	30%	4,48
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	4	40%	4,75
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	5	50%	5,00
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	5	50%	5,00
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	6	60%	5,25
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	6	60%	5,25
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	8	80%	5,84
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 15,885x + 1,7656$$

$$5 = 15,885x + 1,7656$$

$$x = \frac{5 - 1,7656}{15,885}$$

$$x = \frac{3,2344}{15,885}$$

$$x = 0,2036$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,2036) = 1,5981$$

$$CL_{50} = 1,5981 - 1$$

$$CL_{50} = 0,60 \text{ mg/l } (CH_3COO)_2Cd_2H_2O$$

La Concentración Letal media CL₅₀ en el segundo tratamiento con larvas de camarones fue de 0.60 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 6 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 76% del 50% de la mortalidad de los organismos.

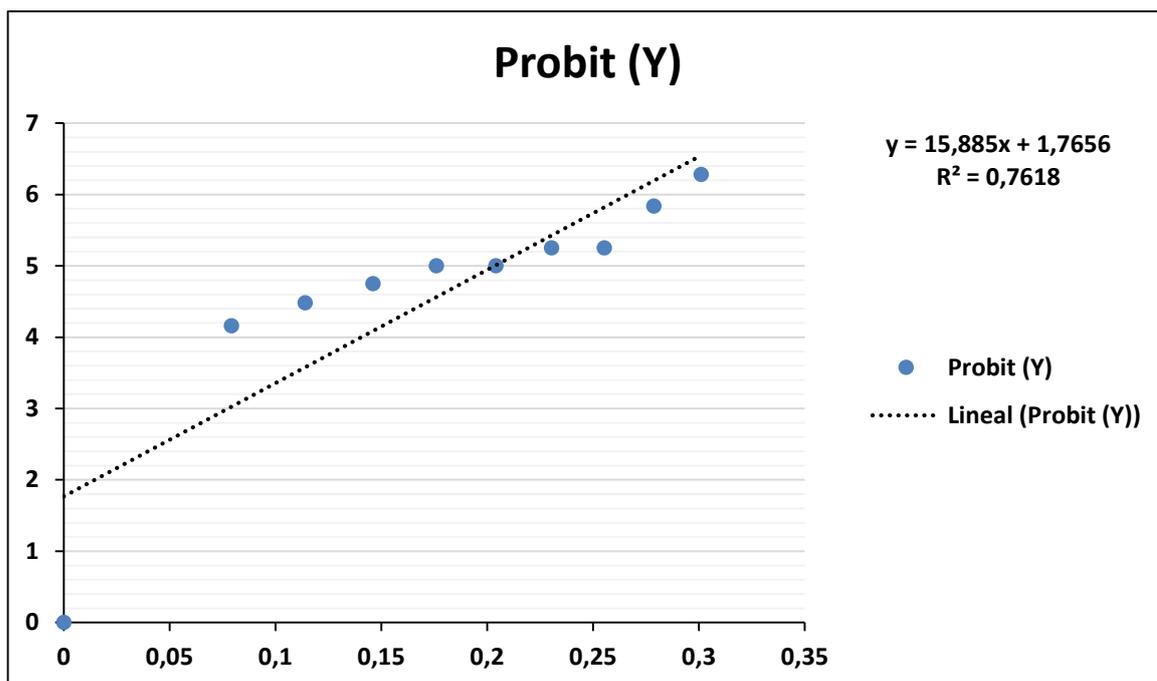


Figura 6.- Sobrevivencia de las larvas de camarón expuestas a al bioensayo en la segunda repetición.

En la tabla 22 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ en las larvas de camarón, reflejados en la sobrevivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el tercer tratamiento.

Tabla 22.- Sobrevivencia de las larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$ en la tercera repetición.

Concentraciones	N° de Animales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	7	6	5	1
0,30 mg/l	10	7	6	3	1
0,40 mg/l	10	7	6	2	-
0,50 mg/l	10	5	4	1	-
0,60 mg/l	10	5	2	1	-
0,70 mg/l	10	5	2	-	-
0,80 mg/l	10	3	2	-	-
0,90 mg/l	10	3	1	-	-
1,00 mg/l	10	1	-	-	-

En la tabla 23 se muestra la determinación del CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en el tercer tratamiento con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Tabla 23.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en tratamiento tres con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	Nº Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	3	30%	4,48
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	3	30%	4,48
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	3	30%	4,48
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	5	50%	5,00
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	5	50%	5,00
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	5	50%	5,00
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	8	80%	5,84
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	8	80%	5,84
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 15,999x + 1,7843$$

$$5 = 15,999x + 1,7843$$

$$x = \frac{5 - 1,7843}{15,999}$$

$$x = \frac{3,2157}{15,999}$$

$$x = 0,201$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,201) = 1,5885$$

$$CL_{50} = 1,5885 - 1$$

$$CL_{50} = 0,59 \text{ mg/l } (CH_3COO)_2Cd_2H_2O$$

La Concentración Metal media CL₅₀ en el tercer tratamiento con larvas de camarones fue de 0.59 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 7 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 76% del 50% de la mortalidad de los organismos.

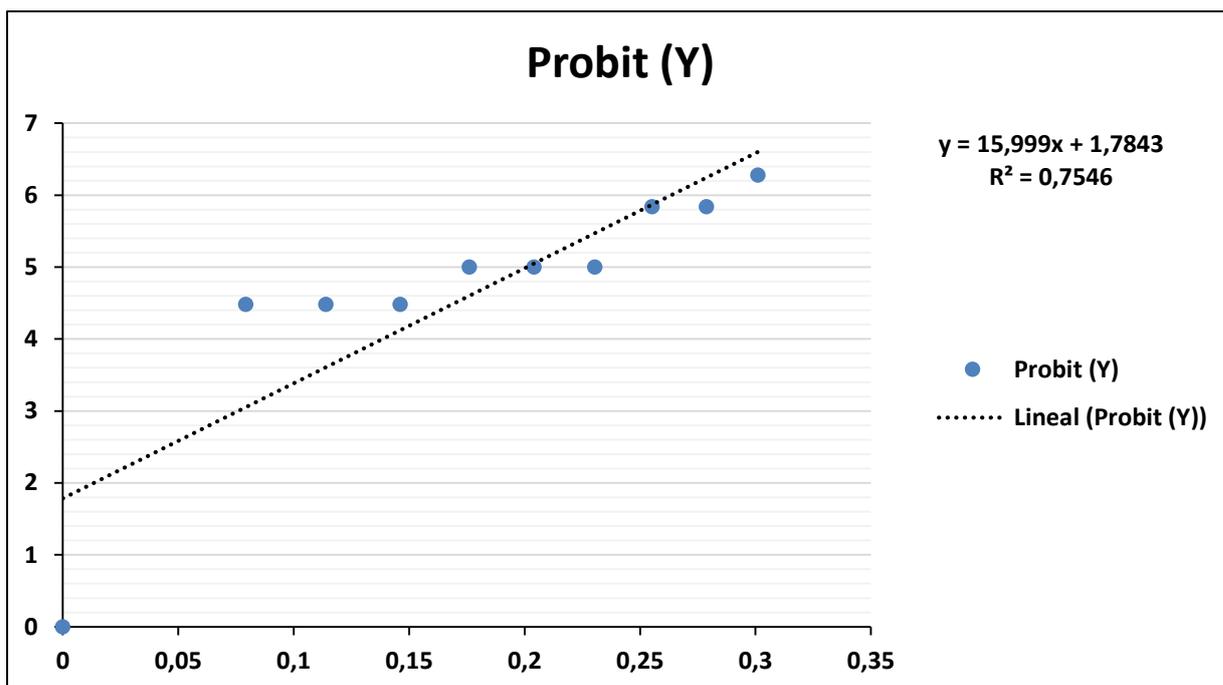


Figura 7.- Sobrevivencia de las larvas de camarón expuestas al bioensayo en la tercera repetición.

En la tabla 24 se detallan los efectos del Acetato de Cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ con las larvas de camarón, reflejados en la sobrevivencia a 24, 48, 72 y 96 horas en el cuarto tratamiento.

Tabla 24.- Sobrevivencia de las larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, a intervalos 24, 48, 72, 96 horas de exposición $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en la cuarta repetición.

Concentraciones	N° de Animales	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
0,00 mg/l	10	10	10	10	10
0,20 mg/l	10	8	6	4	1
0,30 mg/l	10	8	6	3	-
0,40 mg/l	10	7	6	3	-
0,50 mg/l	10	5	4	1	-
0,60 mg/l	10	4	2	-	-
0,70 mg/l	10	3	2	-	-
0,80 mg/l	10	2	1	-	-
0,90 mg/l	10	2	1	-	-
1,00 mg/l	10	1	-	-	-

En la tabla 25 se muestra la determinación del CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en el cuarto tratamiento con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Tabla 25.- Determinación de CL₅₀ de (CH₃COO)₂Cd2H₂O por medio estadístico Probit en tratamiento cuatro con larvas de camarones *Litopenaeus vannamei*.

Concentraciones	*Conc.mg/l	Log10 Conc.	Total Indiv.	Nº Muertos	% Mortalidad	Probit (Y)
0,00 mg/l	0	0	10	0	0%	0
0,20 mg/l	1,2	0,0792	10	2	20%	4,16
0,30 mg/l	1,3	0,1139	10	2	20%	4,16
0,40 mg/l	1,4	0,1461	10	3	30%	4,48
0,50 mg/l	1,5	0,1761	10	5	50%	5,00
0,60 mg/l	1,6	0,2041	10	6	60%	5,25
0,70 mg/l	1,7	0,2304	10	7	70%	5,52
0,80 mg/l	1,8	0,2553	10	8	80%	5,84
0,90 mg/l	1,9	0,2788	10	8	80%	5,84
1,00 mg/l	2	0,3010	10	9	90%	6,28

*Se aumentó 1 al valor original de la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O, para evitar valores negativos.

$$y = 50\%$$

$$y = 17,055x + 1,6087$$

$$5 = 17,055x + 1,6087$$

$$x = \frac{5 - 1,6087}{17,055}$$

$$x = \frac{3,3913}{17,055}$$

$$x = 0,1988$$

$$CL_{50} = \text{Anti log}(0,1988) = 1,5805$$

$$CL_{50} = 1,5805 - 1$$

$$CL_{50} = 0,58 \text{ mg/l } (CH_3COO)_2Cd_2H_2O$$

La Concentración Letal media CL₅₀ en el cuarto tratamiento con larvas de camarones fue de 0.58 mg/l (CH₃COO)₂Cd2H₂O.

En la figura 8 se muestra el coeficiente de determinación (R²) indica que la concentración de (CH₃COO)₂Cd2H₂O influye en el 81% del 50% de la mortalidad de los organismos.

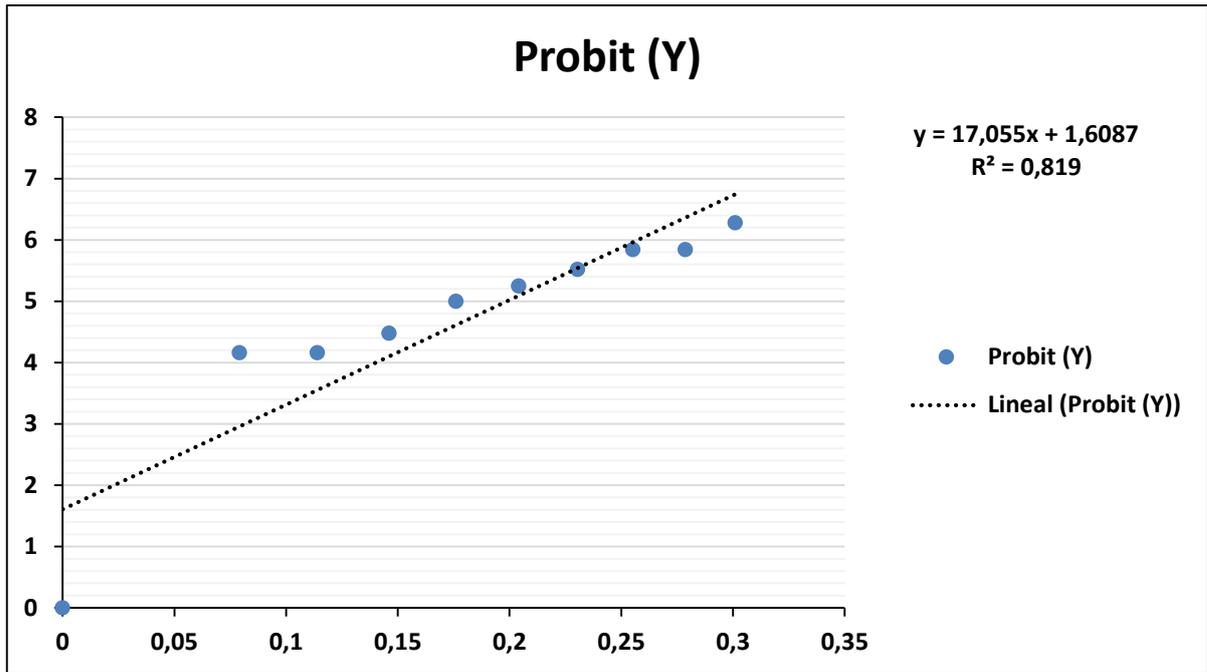


Figura 8.- Sobrevivencia de las larvas de camarón expuestas al bioensayo en la cuarta repetición.

4.4. PARÁMETROS DEL ENSAYO EN LARVAS DE CAMARONES

Litopenaeus vannamei.

4.4.1. PARÁMETROS A LAS 24 HORAS.

En la tabla 26 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomados durante el ensayo con camarones juveniles y acetato de cadmio $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 24 horas.

Tabla 26.- Parámetros obtenidos a 24 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,6	25,5	5,5
0,20 mg/l	7,62	25,1	5,6
0,30 mg/l	7,61	25,2	5,5
0,40 mg/l	7,59	25,4	5,7
0,50 mg/l	7,58	25,3	5,6
0,60 mg/l	7,57	25,1	5,5
0,70 mg/l	7,57	25,1	5,6
0,80 mg/l	7,4	25	5,4
0,90 mg/l	7,5	25	5,3
1,00 mg/l	7,1	24,5	5,1
\bar{x}	7,5	25,1	5,5

4.4.2. PARÁMETROS A LAS 48 HORAS.

En la tabla 27 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomadas durante el ensayo con camarones juveniles y acetato de cadmio en 48 horas

Tabla 27.- Parámetros obtenidos a 48 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,53	25	5,4
0,20 mg/l	7,52	24,6	5,2
0,30 mg/l	7,5	24,3	5,2
0,40 mg/l	7,5	24,1	5,3
0,50 mg/l	7,49	24	5,2
0,60 mg/l	7,43	24	5
0,70 mg/l	7,41	23,9	5,2
0,80 mg/l	7,3	23,6	5,1
0,90 mg/l	7,2	23,5	5
1,00 mg/l	7,1	23,1	4,9
\bar{x}	7,40	24,00	5,15

4.4.3. PARÁMETROS A LAS 72 HORAS.

En la tabla 28 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomadas durante el ensayo con acetato de cadmio en 72 horas.

Tabla 28.- Parámetros obtenidos a 48 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,3	24,9	5,5
0,20 mg/l	7,1	24,6	5,3
0,30 mg/l	7	24,3	5,2
0,40 mg/l	7	24,1	5,2
0,50 mg/l	7	24	5,1
0,60 mg/l	7	24	5
0,70 mg/l	6,9	23,9	4,9
0,80 mg/l	6,8	23,6	4,5
0,90 mg/l	6,8	23,5	4,3
1,00 mg/l	6,5	23	4
\bar{x}	6,93	23,98	4,85

4.4.4. PARÁMETROS A LAS 96 HORAS.

En la tabla 29 se muestran los parámetros de pH, temperatura y oxígeno que fueron tomados durante el ensayo con Acetato de Cadmio en 96 horas.

Tabla 29.- Parámetros obtenidos a 96 horas en el ensayo.

Concentraciones	pH	Temperatura °C	Oxígeno ppm
0,00 mg/l	7,4	24,9	4,9
0,20 mg/l	7	24,8	4,8
0,30 mg/l	7	24,7	4,6
0,40 mg/l	7	24,3	4,3
0,50 mg/l	6,9	24	4,1
0,60 mg/l	6,7	24	4
0,70 mg/l	6,5	23,5	3,7
0,80 mg/l	6,3	23,1	3,5
0,90 mg/l	6,1	23	3,1
1,00 mg/l	5,9	23	3
\bar{x}	6,65	23,91	3,89

5. CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se concluye lo siguiente:

1. Una vez determinada la Concentración Letal media (CL₅₀) con dosis de Acetato de Cadmio en alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) para la presente investigación, se consideró de acuerdo al análisis estadístico Probit de las dosis suministradas, que la CL50 fue de 0,58 mg/l de Acetato de cadmio.
2. Evaluada la Concentración Letal media (CL₅₀) con dosis de Acetato de Cadmio en larvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*) para la presente investigación, se determinó de acuerdo al análisis estadístico Probit de las dosis suministradas, que la CL50 fue de 0,61 mg/l de Acetato de cadmio.
3. El Acetato de Cadmio tiene un alto poder de toxicidad, pudiéndose producir mortalidades excesivas en concentraciones altas tanto en alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) como en larvas de camarones (*Litopenaeus vannamei*).
4. Los alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) resultaron más resistentes a la toxicidad del Acetato de Cadmio que las larvas de camarones (*Litopenaeus vannamei*).

6. RESUMEN

El cadmio es un metal pesado que produce efectos tóxicos en los organismos vivos, aun en concentraciones muy pequeñas. Los bioensayos han sido el método tradicional para documentar la presencia o ausencia de efectos aparentes de los contaminantes sobre los sistemas vivos. Las pruebas letales o toxicidad aguda (CL_{50}) permiten evaluar los principales efectos de los contaminantes sobre la estructura de los organismos o de las poblaciones acuáticas a corto plazo. Se utilizaron 40 acuarios de plástico de 2 litros de capacidad, a cada uno de estos se les colocó el 100% de agua cuyas características físico-químicas fueron similares a las del medio usado en la aclimatación de los animales, monitoreando los valores de temperatura, oxígeno y pH del agua seleccionada. Las observaciones con respecto al número de camarones y alevines de tilapia roja sobrevivientes se realizaron después de cumplirse los periodos de 24, 48, 72 y 96 horas. Se determinó la Concentración Letal media (CL_{50}) en dosis de Acetato de Cadmio en alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) para la presente investigación, se consideró de acuerdo al análisis estadístico Probit, que la media de las dosis suministradas fue de 0,61 mg/l y la concentración letal media (CL_{50}) en dosis de Acetato de Cadmio en larvas de camarón (*Litopenaeus vannamei*), fue en 0,58 mg/l. El Acetato de Cadmio tiene un alto poder de toxicidad, pudiéndose producir mortalidades excesivas en concentraciones altas tanto en alevines de tilapia roja como en larvas de camarones. Los alevines de tilapia roja resultaron más resistentes a la toxicidad del Acetato de Cadmio ($(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O$) que las larvas de camarones.

Palabras claves: Acetato de Cadmio, concentración, alevines, tratamientos, larvas

7. ABSTRACT

Cadmium is a heavy metal toxic effects on living organisms, even in very small concentrations. Bioassays have been the traditional method to document the presence or absence of apparent effects of pollutants on living systems. Lethal or acute toxicity tests (LC50) to assess the main effects of pollutants on the structure of organisms or aquatic populations in the short term. 40 aquarium plastic 2 liter capacity were used, each of these were placed on 100% water whose physicochemical characteristics were similar to those of the medium used in the acclimatization of animals, monitoring the temperature values, oxygen and pH of the water selected. The observations regarding the number of shrimp and red tilapia fingerlings survivors were performed after periods met 24, 48, 72 and 96 hours. The mean lethal concentration (LC50) was determined in dose Acetate cadmium fry red tilapia (*Oreochromis* sp.) To the present investigation, it was considered according to the statistical analysis Probit, the average dose delivered was 0, 61 mg / l and the median lethal concentration (LC50) in doses of cadmium acetate larval shrimp (*Litopenaeus vannamei*) was 0.58 mg / l. Cadmium Acetate has a high power of toxicity, being able to produce excessive mortalities in high concentrations in both red tilapia fry and shrimp larvae. Red tilapia fingerlings were more resistant to the toxicity of cadmium acetate (CH_3COO) $2\text{Cd}2\text{H}_2\text{O}$ shrimp larvae.

Keywords: Cadmium Acetate, concentration, fry, treatments, larvae

8. BIBLIOGRAFÍA

- ALIMONTI A., PETRUCCI F., LAURENTI F., POPOFF P., CAROLI S. 2000. Reference values for selected trace elements in serum of term newborns from the urban area of Rome. *Clin. Chim. Acta*, 292, 163-173
- ALEXANDER L., MELTZER H.M. 1995. Evaluation of essential trace elements. Essential versus Toxis Level of Intake. Nordic Council of Ministers, Copenhagen.
- BERNARD A., ROELS H., BUCHET J.P., CARDENAS A., LAUWERYS R. 1992. Cadmium and health: the Belgian experience. In IARC Scientific Publications, 118, 115-33.
- BELLO J, LÓPEZ DE CERAIN A .2001. Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Madrid, Díaz de Santos.
- BENCKO V. 1995. Toxic Metal in the living and working environment. Grada/Avicenum, Praha.
- BROWN, M. T. Y DEPLEDGE, M. H. 1998. Determinants of trace metal concentrations in marine organisms. Metal metabolism in aquatic environments. Langston, W. J. y Bebianno, M. J. London, Chapman & Hall: 185-217.
- CAMPOS MARTI MIGUEL. 2002. Principios de eco toxicología. Diagnostico tratamiento y gestión del medio ambiente. Mcgraw Hill. Interamericana de España. Barcelona. pág. 2
- GOERING P.L: WMKC. 1995. Toxicology of cadmium. Toxicology of metal. pág. 189- 217.
- KLAASSEN CD y WATKINS JB. 2005. Fundamentos de Toxicología. Madrid, McGraw Hill Interamericana.
- KOYAMA H., KITO H., TOHYAMA C. 2002. Low dose exposure to cadmium. Its health effects. Genotoxicity and carcinogenicity. *Nippon Eis. Zass.*, 57, 547-555.
- LARRAIN, A. 1995. Criterios ecotoxicológicos para evaluar alteraciones ambientales y establecer parámetros de control: importancia de los bioensayos de toxicidad. *Cienc. Tec. Mar*, CONA.
- MOREAU T., *et al.* 1983. Blood cadmium levels in a general male population with special reference to smoking. *Arch. Environ. Health*, 38, 163-167.

- NAGATA C., NAGAO Y., SHIBUYA C., KASHIKY Y., SHIMIZU H. 2005. Urinary cadmium and serum levels of estrogens and androgens in postmenopausal japanese women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 14, 705-708.
- OSKARSSON A., WIDELL A., OLSSON IM., GRAWE KP. 2004. Cadmium in food chain and health effects in sensitive population groups. *Biometals*, 17, 531-534.
- PANT N., et al. 2003. Lead and cadmium concentration in the seminal plasma of men in the general population: correlation with sperm quality". *Reprod. Toxicol.*, 17, 447-459.
- PRIETO A., A. QUESADA Y R. SILVEIRA. 1998. Manual de procedimientos operativos de trabajo. Laboratorio de Diagnostico Sanidad Acuicola. Centro de Investigaciones Pesqueras. La Habana, Cuba. 345p.
- SILVEIRA R., *et al* 1996. Los análisis hematológicos como sistemas de diagnóstico en *Oreochromis aureus* de cultivos en Cuba. *Rev. Latin. Acuicultura*, 36: 4-6.
- RAND, G.M. Y PETROCELLI, S.R. 1985. Fundamentos de la toxicología acuática. McGraw-Hill. Compañía Internacional del libro. Ciudad de Mexico y Sao Paulo.
- TAYLOR, D. 1983. "The significance of the accumulation of cadmium by aquatic organism." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7: 33-42.
- TORREBLANCA, A., DIAZ-MAYANS, J. Y DEL RAMO, J. 1993. "Acumulación de metales". *Metales en sistemas biológicos*. Barcelona, Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A. pp. 257-274.
- TAHER, A. G. Y SOLIMAN, A. A. 1999. "Heavy metal concentrations in surficial sediments from Wadi El Natrun saline lakes, Egypt." *International Journal of Salt Lake Research* 8: 75-92.

Referencia General de Internet:

- AGENCIA INTERNACIONAL PARA LA INVESTIGACIÓN SOBRE EL CÁNCER (IARC). 1993. Summaries & evaluations: Cadmium and cadmium compounds (Group 1). Lyon, International Agency for Research on Cancer, p. 119 (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 58;

<http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-internacional/fd-colaboracion-internacional/iarc.shtml>

Referencia en series de Institutos:

ANTÓN A. Y J. LIZASO. 2001. Los metales pesados en la alimentación. Fundación Ibérica para la seguridad alimentaria. Madrid. España. 5p.

CASTILLO GABRIELLA. 2004. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas. Estandarización, Intercalibración, Resultados y Aplicaciones. Primera Edición. México. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA).

VERA, G., 1999. Pruebas ecotoxicológicas con cádmio y cromo usando postlarvas. Instituto Del Mar Del Peru (IMARPE), Dirección general de Investigaciones em Acuicultura, Apdo. 22, Callao, Perú.

VARGAS-BOLDRINI C. 1994. Ictiofauna. Características gerais e metodologias. Avaliação de impacto. Curso “Caracterização de ecossistemas aquáticos e transição”. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo. São Paulo, Brasil.

VOTO J. 2002. Piscicultura Amazônica com espécies nativas. Tratado de Cooperación Amazônica. Secretaria Pro-tempore. São Paulo, Brasil. 350 p.

Referencia en series de una Organización Internacional:

CONROY D. 1998. Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciana. N° 1. Pharma-Fish. Maracay, Venezuela. 25 p.

DEL VALLS, T. y CONRADI M. 2000. Avances en ecotoxicología marina: comparación entre test de laboratorio y estudios in situ para la evaluación de la calidad ambiental de los sedimentos. Ciencias Marinas.

FRIBERG L., VAHTER M. 1983. Evaluación de la exposición al plomo y cadmio a través del monitoreo biológico: results of a UNEP/WHO global study. Environ. Res., 30, 95-128,

FRERY N., *et al.* 1993. La exposición ambiental al cadmio y el peso al nacer humano. toxicología:, 79, 109-180

Referencia en series de Universidades:

ESCOBAR J. Y S. VERGARA. 1975. Evaluación de aspectos contaminantes por residuos de hidrocarburos procesados. Ciénaga de San Silvestre – El Llanito. Inderena. Región Oriental. Proyecto Pesca. Universidad Industrial de Santander. Colombia. 33p.

FIGUEROA L. 1998. Acumulación y depuración de cobre y cadmio en *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1952), (Pisces: Cichlidae). Efectos subletales sobre el crecimiento en función de ARN/ADN. Trabajo Especial de Grado. Departamento de Biología, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 37p.

Referencia de artículos de revistas de Internet:

DIAZ-BÁEZ MARIA CONSUELO *et al.* 2004. Pruebas de Toxicidad acuática: fundamentos y métodos. Universidad Nacional de Colombia. ISBN 958-701-385-9: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=BAC.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=044722>

DOMITROVIC H. 1997. El empleo de peces autóctonos para la realización de ensayos de toxicidad: Evaluación de la especie *Aequidensport alegrensis* (Hensel, 1870). VI Jornadas de Ciencias Naturales del Litoral. Argentina. Resumen. <http://www.10jcnl.santafe-conicet.gov.ar/>

FRIBERG, L.; PISCATOR, M.; NORDBERG, GF; KJELLSTROM, T. 1974. El cadmio en el medio ambiente. ISBN 0-87819-018-X Número del Registro 19762700375, pág. 248: <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cd.htm>

PINOT FRANÇOISE, *et al.* 201. Opiniones sobre Salud Ambiental. Volumen 15, Número 3, Pág. 299-324, ISSN (Online) 2.191-0308, ISSN (Print) 0.048-7554, DOI: 10.1515/REVEH.2000.15.3.299: http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S0124-00642013000100006&script=sci_abstract&tlng=es

PUKLOVA V., BATARIOVA A., CERNA M., KOTLIK B., KRATZER K., MELICHERIK J., SPEVAKOVA V. 2005. Cadmium exposure pathways in the Czech urban population. Cent. Eur. J. Public Health, 13, 11-19.

APÉNDICES

Apéndices 1
ACLIMATACIÓN DE LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*



Foto 1.- Colocación de larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*



Foto2.- Aclimatación de las larvas de camarón *Litopenaeus vannamei*.

Apéndice 2

ACLIMATACIÓN DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA *Oreochromis sp.*



Foto 3.- Aclimatación de los alevines de tilapia roja *Oreochromis sp.*



Foto 4.- Alevines de tilapia roja listos para el bioensayo

Apéndice 3

MATERIALES UTILIZADOS



Foto 5.- Preparación de los acuarios de plásticos para la prueba de toxicidad



Foto 6.- Determinación del CL₅₀₋₉₆ horas en el laboratorio de Bioensayo.

Apéndice 4

TABLA DE VALORES PARA EL CALCULO DE PROBIT

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33