



126945

Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

“Determinación de Algunos Parámetros
Fisiológicos del Langostino:
Macrobrachium rosenbergii
Expuesto a Concentraciones Subletales de
Cadmio Y Cromo”

T e s i s
Que para obtener el título de:
Maestro en Biología Experimental
P r e s e n t a
Patricia Ramírez Romero,

IZTAPALAPA, JUNIO 1992

México 26 de junio de 1992

20-XII-86

126945

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias al apoyo de un sinúmero de personas, quienes de manera desinteresada colaboraron en la realización de este.

Agradezco:

- al grupo de trabajo del Laboratorio de Contaminación, Bioensayos e Impacto Ambiental, al que pertenezco y en quienes encontré un apoyo ilimitado.
- por el prestamo de sus instalaciones al Laboratorio de Producción Acuícola, en especial a la M. en C. Ana Laura Ibañez.
- al M. en C. Oscar Comas Rodríguez, Jefe del Departamento de Hidrobiología, por su apoyo.
- al Comité Evaluador de la Maestría en Biología Experimental por su consejos y tiempo, y a todos los maestros que trataron de transmitirme sus conocimientos a lo largo de este período.
- al Sr. Jorge Lodigiani por la fotografía para la presentación de esta tesis.
- a la Coordinación de Laboratorios por el prestamo de materiales y reactivos.
- a mi familia por toda su ayuda, en especial a Carlos por la edición de este documento, a Horacio por las figuras y a mi esposo Guillermo porque este trabajo fue tan importante para el como para mi.
- y en especial al Dr. Carlos Rosas Vázquez, al Dr. José Luis Arredondo y a la M. en C. Guillermina Alcaraz quienes asesoraron esta tesis.

Este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Contaminación, Bioensayos e Impacto Ambiental, del Departamento de Hidrobiología, de la UAM-I.

Parte del apoyo financiero para esta tesis fue obtenido del Proyecto "Comportamiento de algunos contaminantes en la Laguna de Tamiahua y capacidad de autodepuración del sistema", con convenio no. P220 CCOR892150 de CONACYT.

La Maestría en Biología Experimental de la UAM-I está en el padrón de posgrado de excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y cuenta con apoyo por medio del convenio de fortalecimiento del posgrado nacional no. 7.

Contenido

Resumen	1
Abstract	2
1 Introducción	3
2 Método	10
2.1 Consumo y tasa de extracción de oxígeno	12
2.2 Permeabilidad	13
2.3 Resistencia a la temperatura (TCM)	13
2.4 Análisis estadístico	14
3 Resultados y discusión	15
3.1 LC_{50-96}	15
3.2 Consumo de oxígeno	17
3.3 Tasa de extracción de oxígeno	19
3.4 Permeabilidad al sodio	30
3.5 Permeabilidad al potasio	32
3.6 Pérdida del equilibrio TCM	42
3.7 Temperatura de muerte	45
4 Diagnóstico general	55
5 Conclusiones	60
Literatura citada	61

Resumen

Se determinó la LC_{50-96} del cromo ($1250 \pm 320 \mu\text{g/L}$) y el cadmio (67.14 ± 12.18) para langostinos juveniles (*Macrobrachium rosenbergii*) en agua dura.

Se expuso a estos organismos a dos concentraciones subletales de cromo (350 y 700 $\mu\text{g/L}$) y de cadmio (20 y 50 $\mu\text{g/L}$) en dos durezas distintas (47.7 y 137 mg CaCO_3) por 96 horas para evaluar la respiración, la permeabilidad y la resistencia a la temperatura.

El consumo de oxígeno de los animales expuestos se redujo en las primeras horas, sin embargo a las 96 horas la mitad de los grupos mostraron una recuperación evidente. La tasa de extracción de oxígeno se mantuvo cerca del 100 % a todo lo largo de la exposición.

La permeabilidad al sodio y al potasio se alteró por efecto de los metales pesados, por lo que los animales perdieron estos iones hacia el medio.

La TCM de los langostinos expuestos se presentó en general antes que la de los testigos, con lo que se demostró la alteración experimentada por la exposición a los metales y sobre todo en la permeabilidad. La temperatura de muerte no resultó un buen indicador de estrés.

Los resultados demostraron que los mecanismos de respuesta a la intoxica-

ción por metales pesados no dependen únicamente del metal si no también de las concentraciones que se manejen.

Abstract

The LC_{50-96} for *Macrobrachium rosenbergii* exposed to chromium ($1250 \pm 320 \mu\text{g/L}$) and cadmium (67.14 ± 12.18) in hard water were established. Later the organisms were exposed 96 hours to two sublethal concentrations in two different hardness, where the respiration, permeability and resistance to temperature were evaluated. The oxygen consumption of the exposed animals was reduced in the first hours; though, half of the groups showed an evident recovery at the end of the test. The oxygen extraction rate was near the 100 % always. The gills' permeability to sodium and potassium was disrupted, and the animals lost these ions to the environment. In general the CTM of the exposed organisms was detected before than that of the control group. With this we probed that the sublethal concentrations used caused stress to the animals, in special to their permeability. The death temperature was not a very good stress indicator. The results showed that the response to intoxication depends not only on the metal, but on the concentrations too.

Capítulo 1

Introducción

El deterioro de la calidad del agua no es un problema nuevo, de alguna manera esto ha existido desde que los seres humanos comenzaron a congregarse en ciudades. Pero el impacto del hombre en los ambientes acuáticos y sobre la calidad del agua estaba muy localizado y limitado hasta antes de la revolución industrial. Después, la creciente concentración tanto de fábricas como de personas dió nuevas dimensiones a los problemas de calidad del agua (Kneese y Bower, 1971).

La rápida tasa de incremento en la producción de químicos orgánicos sintéticos en las pasadas décadas, y su liberación al ambiente por múltiples medios de transporte hacen que el pronóstico de las futuras cantidades y tipos de descargas sean difíciles de calcular. Mas aún debido a que muchos compuestos son volátiles, es evidente que el ambiente continuará estando expuesto a un constante y creciente deterioro (Ketchum, 1972). El problema se ha hecho tan grande y complejo que el manejo de la contaminación acuática debe ser

considerado como un problema moderno que requiere de nuevos acercamientos. La manera en que los contaminantes interactúan biológica y químicamente con los compuestos del ambiente es de importancia al considerar su efecto total sobre el ambiente.

Los metales pesados existen en forma natural en los ambientes acuáticos como resultado del intemperismo y el drenado de las tierras, pero las concentraciones de estos son bajas (del orden de los $\mu\text{g/L}$) excepto donde hay afloramientos metalíferos (Kumaraguru *et al*, 1980).

Los mecanismos que poseen los organismos para enfrentar las fluctuaciones naturales de los metales pesados adquieren importancia en condiciones de contaminación, ya que éstos pueden llegar a ser tóxicos (Thurberg, *et al*, 1973).

Debido a que ciertos metales son necesarios para los procesos vitales de los organismos, estos pueden formar complejos con las sustancias orgánicas (Webb, 1974), por lo que el sitio activo de algunas macromoléculas es un sitio potencial para la interacción de los metales tóxicos; sin embargo también se deben tomar en cuenta todos los grupos donadores de electrones como sitios de posible unión (Eichhorn, 1974). Existe entonces una tendencia a que sean fijados y no a ser excretados, por lo que su vida media biológica es muy larga. Esto es quizás uno de los mayores problemas que los metales presentan respecto a sus efectos en los organismos acuáticos (Waldichuck, 1974; Miettinen, 1974).

El cromo es un metal que desempeña algunas funciones en los procesos vitales de los organismos, sin embargo a ciertas concentraciones puede llegar a ser tóxico (Paternac y

Legovié, 1986). Entre las fuentes antropogénicas del cromo están la extracción de compuestos de cromo a partir de la cromita, la industria química, colorantes, pigmentos, plaguicidas, el cromado electrolítico o galvanoplastia y el curtido de cueros y pieles, el uso de compuestos de cromo como mordientes en teñido de telas y otros usos menores como conservación de la madera, cerámica metálica, fotograbado, fabricación de cerillos, explosivos, linóleo, etc. (Figuroa, 1988).

El cadmio a diferencia del cromo no parece tener utilidad biológica (McKee y Wolf, 1971) y se le considera como uno de los elementos más tóxicos. En la actualidad, las principales fuentes antropogénicas de este metal son su utilización en pigmentos y pinturas, baterías, como estabilizador del PVC, como recubrimiento de otros metales, en procesos de galvanoplastia, electroplateado, en aleaciones, en acumuladores, en soldaduras, en reactores nucleares, en joyería, etc (Badillo, 1988).

Gran parte de la información acerca de los efectos de los contaminantes en los organismos acuáticos ha sido obtenida de estudios de mortalidad, sin embargo se sabe muy poco acerca del daño producido a procesos fisiológicos y bioquímicos. Consecuentemente, el modo de acción de los tóxicos y la causa de la muerte de los organismos, con frecuencia se desconocen. Una mejor comprensión de estos mecanismos es necesaria para predecir el daño potencial de los contaminantes al ambiente (Larson, 1976).

Para el estudio de la contaminación en aguas dulces la dureza es un parámetro muy importante ya que al parecer los iones carbonato actúan como agentes quelantes de los metales formando complejos que se precipitan como carbonatos o hidróxidos, disminuyendo así la cantidad de contaminante disponible para los organismos; otra teoría para la baja

toxicidad en durezas altas es que el calcio reduce la toxicidad de los metales afectando la permeabilidad de las branquias (Black, et al, 1973).

Cuando un organismo esta expuesto a niveles subletales (estrés), se suceden cambios fisiológicos que pueden ser observados a corto (96 horas) o largo plazo. El resultado neto es un cambio en la energía disponible para crecimiento y reproducción (Wang y Stickle, 1988).

Los efectos de los contaminantes en los procesos vitales pueden ser medidos en ocasiones cuantitativamente (inhibición de la fotosíntesis, respiración, conversión de energía, movilidad, etc.); sin embargo otros efectos deleterios son más sutiles, más difíciles de detectar y si no se prueba con cuidado pueden pasar desapercibidos hasta que una especie particular es eliminada (Ketchum, 1972).

La inhibición de procesos particularmente sensibles como la fotosíntesis o la respiración ocurren a menudo a concentraciones del contaminante por debajo del nivel de las que afectan otras funciones vitales. Es por esto que la detección de estos cambios puede ser útil para evaluar el potencial tóxico de pequeñas concentraciones del contaminante.

En los ecosistemas acuáticos los contaminantes tienen como primera vía de entrada a los organismos las branquias de estos. Debido a que estos organos siempre estan en contacto directo con el agua, los procesos que se regulan en ellos pueden verse afectados de inmediato por el contacto con los contaminantes, tal es el caso de la respiración y de la permeabilidad a los iones del medio (González *et al*, 1990).

La medición del consumo de oxígeno es un buen indicador del bienestar general del organismo y por lo tanto del estrés al que pueda estar sujeto. Cuando ocurren cambios importantes en la respiración se reducen las oportunidades de sobrevivencia, así como el potencial de crecimiento y reproducción (Verriopoulous *et al*, 1986).

Se sabe que la permeabilidad de las branquias es afectada por algunos metales y como resultado, los organismos pierden iones importantes como el sodio y el potasio los cuales pueden ser medidos (Mc Donald *et al*, 1989). Esto ocurre debido a la interferencia de los metales en los sistemas de transporte de iones de las branquias y en los sitios de unión del calcio, lo cual trae como resultado una disminución en la entrada del sodio y otros electrolitos, y una pérdida rápida de estos (Mc Donald, 1983).

Otra respuesta fácilmente observable y que se considera un buen indicador de estrés es la resistencia a la temperatura; una manera de medirla es a través de la Temperatura Crítica Máxima (TCM) la cual utiliza la muerte ecológica y no la fisiológica como punto final de la prueba. Cox (1974) define la TCM como la media aritmética del conjunto de puntos de temperatura a la cual la actividad locomotora se desorganiza, y el animal pierde la habilidad para escapar de condiciones que lo lleven rápidamente a su muerte. Para medir la TCM se ha utilizado un método en el cual se expone a los animales a un incremento constante de la temperatura a la que se han aclimatado (p. ej. 1 °C/min). Este incremento debe ser de tal forma que la diferencia entre la temperatura corporal y la ambiental no sea mayor de 0.3 °C.

Muchos investigadores prefieren a los crustáceos para estudiar los efectos tóxicos debido a su respuesta inmediata a exposiciones a corto plazo. El langostino malayo *Macrobrachium*

rosenbergii ha sido importado por muchos países incluyendo México y es ideal para cultivo e investigación por ser menos agresivo que otras especies, de rápido crecimiento, gran adaptabilidad y resistencia al manejo; virtudes que lo hacen competir ventajosamente con muchas especies locales (Heinz, 1988). Su cultivo es de gran importancia y actualmente se tiene un buen conocimiento de sus necesidades (Corbin *et al*, 1983; New y Singholka, 1982; Sick y Milkin, 1983). Más aún las larvas de esta especie han sido utilizadas para evaluar la toxicidad de algunos contaminantes como los insecticidas organofosforados (Juarez y Sanchez, 1989), y los nitratos (Armstrong *et al*, 1976).

Debido a todo lo expuesto anteriormente en este trabajo se establecieron los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

- Determinar algunas respuestas metabólicas del langostino *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a concentraciones subletales de cadmio y cromo, con el fin de establecer un diagnóstico relacionado con los efectos de estos contaminantes.

Para lo cual se plantearon los siguientes

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la LC50-96 del cadmio y el cromo, para establecer los niveles subletales de exposición.
- Cuantificar las modificaciones en el consumo de oxígeno y la tasa de extracción de oxígeno.

- Determinar las modificaciones en la capacidad de osmorregulación del organismo.
- Registrar los cambios en la tolerancia al estrés térmico a través de la Temperatura Crítica Máxima (TCM).

HIPOTESIS

- El consumo y la tasa de extracción de oxígeno deben modificarse como respuesta a la exposición a niveles subletales de metales pesados.
- Los organismos expuestos a concentraciones subletales de metales pesados pierden su capacidad de osmorregulación.
- La tolerancia a la temperatura disminuye en organismos expuestos a concentraciones subletales de cadmio y cromo.

Capítulo 2

Método

Dos lotes de 600 organismos juveniles de la especie *Macrobrachium rosenbergii* fueron obtenidos en la granja "Las Fuentes", Xiutepec, Edo. de Morelos. Los langostinos se sacaron de los estanques rústicos utilizando un chinchorro, posteriormente se les colocó en grupos de 60 animales en bolsas de polietileno con agua saturada de oxígeno para proceder a su traslado a la Ciudad de México. Solo se utilizaron organismos de 4 a 6 cm de longitud.

Ya en el laboratorio los langostinos fueron colocados en grupos de 100 en estanques de fibra de vidrio de 1m³ de capacidad, con filtro biológico y aireación constante. Durante siete días de aclimatación al laboratorio los animales se alimentaron con Camaronina 35% de Purina y se mantuvieron a 20 °C, ph = 7.5, 5 mg O₂/L y una dureza de 138 mg CaCO₃/L.

Para determinar las concentraciones subletales de Cadmio y Cromo adecuadas para

estos organismos, se llevaron a cabo los experimentos de toxicidad aguda para cadmio en la forma de CdCl_2 y cromo en la forma de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (Merk), en agua dura (138 ppm CaCO_3). En estos ensayos y en los de concentraciones subletales se utilizó un sistema estático. Para calcular la LC50 se utilizó el método Probit (APHA, 1989)

Las concentraciones subletales utilizadas fueron 20 y 50 $\mu\text{g/L}$ para el cadmio y 350 y 700 $\mu\text{g/L}$ para el cromo, con un grupo control respectivamente, en dos durezas distintas de 137 y 47.7 mg CaCO_3 utilizando agua dulce artificial (EPA, 1989). Grupos de 30 animales fueron colocados en peceras de 100 L de capacidad a la dureza requerida durante 4 días a manera de aclimatación y posteriormente se suspendió la alimentación y se agregaba el tóxico en la concentración adecuada.

Diariamente se midieron la temperatura y el oxígeno disuelto con un Oxímetro YSI-54A, así como el pH con un potenciómetro de campo Conductronic 10. Al principio y al final de los experimentos la dureza fue evaluada con el kit comercial Aquamerck dureza total. Adicionalmente se tomaron muestras del agua a las que se agregó HNO_3 , para verificar la concentración del tóxico con un espectro de Absorción Atómica Varian-AA.

El estrés causado por los metales disueltos en el agua se observó a través de la medición de las alteraciones al consumo de oxígeno, la permeabilidad de las branquias al sodio y potasio y la resistencia a la temperatura; estos parámetros fueron observados a las 0, 24, 48 y 96 horas de exposición.

2.1 Consumo y tasa de extracción de oxígeno

Las observaciones del consumo de oxígeno se hicieron utilizando recipientes de polietileno de 2 L de capacidad a manera de respirómetros cerrados (Ramírez et al, 1989). Se colocaron 10 organismos por concentración de manera individual, en agua de la dureza y concentración del tóxico correspondiente. En estas cámaras permanecieron al menos 2 horas antes de iniciar las mediciones, esto con el fin de compensar el estrés causado por el manejo de los organismos al trasladarlos de las peceras a las cámaras.

Debe hacerse notar que el tiempo necesario para detectar el oxígeno consumido fue de 1.5 horas y que adicionalmente el consumo de oxígeno fue corregido con datos derivados de cámaras control que no contenían ningún animal.

Una vez medido el consumo de oxígeno los organismos utilizados fueron sacrificados para su posterior secado en una estufa a 60 °C hasta peso constante y así expresar el consumo en mg O₂/hr * gps (ps = peso seco).

La tasa de extracción fue calculada con la fórmula:

$$\%E = \frac{VO_{2i}}{OC_i} * 100$$

donde %E es el porcentaje de oxígeno extraído durante el período i; VO_{2i} es el consumo

de oxígeno expresado en mg O₂/hr por animal, y OC_i es la concentración presente antes de sellar la cámara en el tiempo i, en mg/L (Sanchez et al, 1991).

2.2 Permeabilidad

Para la observación de las alteraciones de la permeabilidad de las branquias se midió el flujo pasivo de los iones sodio y potasio. Para ello se utilizaron 7 organismos por concentración y tiempo de exposición, los cuales se colocaron de manera individual en cámaras de 2 litros con agua deionizada. Se tomó una muestra del agua de las cámaras a los 60 minutos, donde posteriormente se cuantificó el sodio y el potasio mediante un flamómetro Corning 400.

2.3 Resistencia a la temperatura (TCM)

La respuesta al estrés térmico se observó en 10 organismos por concentración en cada intervalo de tiempo. Los animales fueron colocados de manera individual en cámaras de cristal con agua de la dureza y concentración del tóxico correspondiente y con aireación constante, con el fin de evitar el estrés producido por la disminución de la concentración de oxígeno y además para evitar la estratificación de la temperatura. Estos recipientes fueron colocados de tres en tres en un dispositivo de baño María en el que se incrementó la temperatura 1.2 °C/minuto con una resistencia de 1000 watts. Las observaciones de la conducta de los animales se hicieron en cada incremento. Se consideró como TCM la temperatura a la que los organismos perdían el equilibrio (Cox, 1974). Adicionalmente se

midió la temperatura de muerte, considerando que esta ocurría cuando el escafognatito se detenía.

2.4 Análisis estadístico

A los resultados se les aplicó análisis de varianza para conocer las diferencias entre el grupo control y los expuestos a los contaminantes, con un límite de confianza del 95%, a través de una ANOVA y una prueba de rangos múltiples de Duncan (Zar, 1974).

En el caso de los datos de la tasa de extracción de oxígeno, antes del análisis de varianza se les aplicó la transformación $\sqrt{\text{arc sen}}$.

Capítulo 3

Resultados y discusión

Las condiciones del agua de los bioensayos se pueden observar en la tabla 1. La temperatura se mantuvo en 20.6 ± 0.3 °C y el oxígeno disuelto en 6.37 ± 1.32 mg O₂/L; por su parte se registró un pH de 7.6 ± 0.28 y una dureza para el caso de los experimentos de agua dura de 136.73 ± 2.82 mg CaCO₃ y para los experimentos con agua suave de 47.73 ± 2.41 mg CaCO₃.

3.1 LC₅₀₋₉₆

En las pruebas de toxicidad aguda se determinó que la LC₅₀₋₉₆ del cadmio es 67.14 ± 12.18 µg/L y la del cromo 1250 ± 320 µg/L, siendo el cadmio entonces 22 veces más tóxico que el cromo.

Tabla 1. Parámetros del agua utilizada en los bioensayos

(Promedio \pm error estándar)

	CROMO		CADMIO	
	Agua dura	Agua suave	Agua dura	Agua suave
Temperatura (°C)	20.58 \pm 0.11	20.83 \pm 0.13	20.69 \pm 0.04	20.30 \pm 0.18
pH	7.59 \pm 0.28	7.32 \pm 0.25	7.67 \pm 0.09	7.82 \pm 0.40
Oxígeno (mg / L)	6.33 \pm 0.55	6.08 \pm 0.53	5.22 \pm 0.24	7.86 \pm 0.38
Dureza (mg CaCO ₃ /L)	137.23 \pm 3.77	47.73 \pm 3.18	136.23 \pm 2.23	47.73 \pm 2.09

Macrobrachium rosenbergii resultó una buena especie para este tipo de ensayos ya que es altamente sensible a ambos contaminantes. Para el caso del cromo solo *Daphnia magna* (85.7 $\mu\text{g/L}$) presenta una LC_{50} menor que esta especie (EPA, 1984a) y en el caso del cadmio *Daphnia magna* (3.3 $\mu\text{g/L}$) y *Oncorhynchus kisutch* (10.4 $\mu\text{g/L}$) presentan valores menores (EPA, 1984b).

3.2 Consumo de oxígeno

En general los resultados del consumo de oxígeno mostraron que el efecto de los metales produjo una disminución en este parámetro, sin embargo la mitad de los grupos expuestos no presentaron diferencias significativas a las 96 horas ($p > 0.05$).

Este mismo comportamiento de inhibición de la respiración debida a una exposición a cadmio es la respuesta más frecuente y se ha observado en *Uca annulipes* y *U. triangularis* (Uma Devi y Prabhakara Rao, 1989), *Palaemonetes pugio* (Hutcheson, et al, 1985) y *Carcinus maenas* y *Cancer irroratus* (Thurberg, 1973). Sin embargo también se ha observado en otros organismos que tanto el cadmio como el cromo provocan un aumento del consumo de oxígeno, como en el caso de *Palaemon elegans* (Moriaitou-Apostolopoulou et al, 1982). Estas diferencias parecen indicar que el consumo de oxígeno se ve afectado de distintas maneras por el mismo contaminante y que los mecanismos de respuesta de cada especie no son necesariamente los mismos.

En los organismos expuestos a cromo en agua dura (Fig. 1a y tabla 2a) fue evidente el efecto del metal durante las primeras 24 horas, ya que en ambas concentraciones el consumo fue significativamente menor (0.41 y 0.37 $\text{mgO}_2/\text{h} * \text{gps}$) que el del grupo control (0.57 $\text{mgO}_2/\text{h} * \text{gps}$). Sin embargo estos organismos lograron equilibrar su consumo a las 48 horas mostrando valores muy cercanos a los del grupo control ($p > 0.05$). Esta recuperación fue mantenida a las 96 horas solo por los animales expuestos a la mayor concentración ($700 \mu\text{g/L}$), ya que aunque su consumo fue menor (0.73 $\text{mgO}_2/\text{h} * \text{gps}$) que el de los controles (0.81 $\text{mgO}_2/\text{h} * \text{gps}$) no presentó diferencias significativas. En comparación

aquellos organismos expuestos a 350 $\mu\text{g/L}$ mostraron un valor significativamente menor (0.57 $\text{mgO}_2/\text{h} * \text{gps}$). Este comportamiento nos hace suponer que en un plazo más largo es probable que los organismos logren adaptarse a estas concentraciones de cromo, no sin experimentar algún otro tipo de daño que altere sus mecanismos de sobrevivencia.

En el caso de los organismos expuestos a cromo en agua suave (Fig. 1b y tabla 2b) la concentración de 700 $\mu\text{g/L}$ resultó letal a las 72 horas; lo cual demuestra la mayor toxicidad de los metales en agua suave. Por su parte el consumo de oxígeno de los langostinos expuestos a 350 $\mu\text{g/L}$ siempre fue menor que el del grupo control, y a pesar de que esta diferencia se incrementó a lo largo de la exposición, nunca llegó a ser significativa. El grupo expuesto a 700 $\mu\text{g/L}$ mostró una baja en el consumo desde las 24 horas, pero la caída de este parámetro fue muy evidente ($p < 0.05$) a las 48 horas (0.31 $\text{mgO}_2/\text{h} * \text{gps}$), de donde ya no se recuperó.

En cuanto a los animales expuestos a cadmio en agua dura (Fig. 2a y tabla 3a) observamos que el consumo de oxígeno también fue menor que el de su respectivo grupo control a lo largo de toda la exposición y que el mayor efecto se detectó a las 24 horas. En el caso de la concentración menor (20 $\mu\text{g/L}$) parece ser que el efecto no fue drástico ya que a todo lo largo del experimento aunque menor, el consumo no fue estadísticamente diferente al de los testigos ($p > 0.05$). Sin embargo aquellos langostinos expuestos a 50 $\mu\text{g/L}$ siempre presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), lo cual nos sugiere que esta concentración puede a largo plazo causar problemas serios disminuyendo la probabilidad de sobrevivencia de estos organismos.

Por su parte los langostinos expuestos a cadmio en agua suave (Fig. 2b y tabla 3b)

presentaron un comportamiento parecido al de los expuestos a cadmio en agua dura ya que a partir de las 48 horas y hasta las 96 sus consumos fueron menores a los de los controles. También en este caso solamente el grupo expuesto a la mayor concentración (50 $\mu\text{g/L}$) presentó diferencias significativas ($p < 0.05$), por lo que podemos decir que esta concentración puede ser un problema tanto en agua dura como en agua suave.

3.3 Tasa de extracción de oxígeno

En cuanto a la tasa de extracción (Fig.3 y Fig.4), se pudo observar que en general existe una tendencia a igualar la tasa de los testigos. De hecho a las 96 horas en todos los grupos expuestos, la tasa de extracción no presentó diferencias con respecto a los controles ($p > 0.05$), con una sola excepción, los organismos sometidos a 20 $\mu\text{g/L}$ de cadmio en agua dura.

La tasa de extracción de los organismos expuestos a cromo en agua dura (Fig 3a, tabla 4a) se observó, en general, disminuida respecto a la de los controles. La menor concentración (350 $\mu\text{g/L}$) mostró su mayor efecto a las 24 horas ($p < 0.05$), sin embargo los animales recuperaron su equilibrio a las 48 horas. La concentración de 700 $\mu\text{g/L}$ afectó a los langostinos un período de tiempo mayor, ya que a las 48 horas aún se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), pero ya para las 96 horas estos casi alcanzaron los niveles de los testigos ($p > 0.05$).

En el caso de los animales expuestos a cromo en agua suave (Fig. 3b, tabla 4b) la

tasa de extracción sigue muy de cerca a la de los controles, no presentándose diferencias significativas ($p > 0.05$) a todo lo largo del experimento.

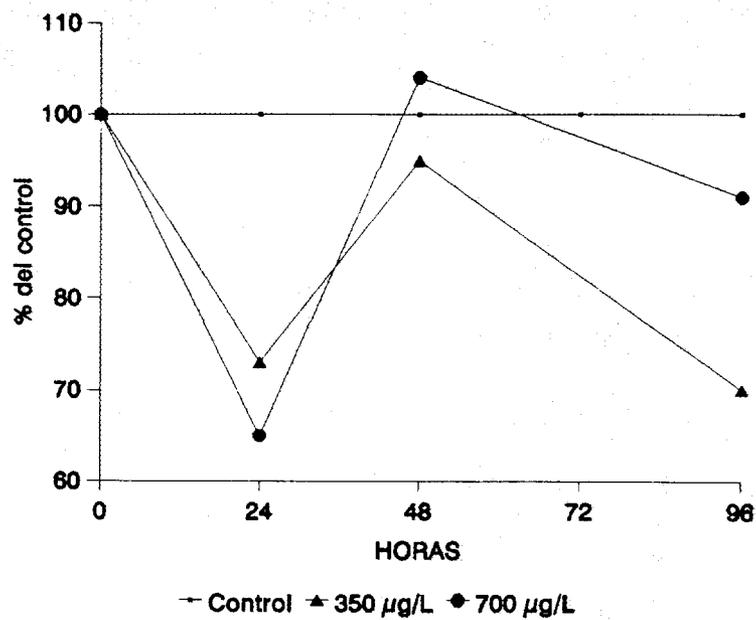
Por su lado los langostinos expuestos a cadmio en agua dura (Fig. 4a, tabla 5a), a las 24 horas, presentaron una tasa de extracción mayor que la de los controles ($p < 0.05$). En el caso de la concentración de $20 \mu\text{g/L}$ la tasa se restableció a las 48 horas no presentando diferencias significativas ($p > 0.05$). Sin embargo a las 96 horas la diferencia nuevamente se incrementó y se hizo significativa ($p < 0.05$). Es de notar que los animales expuestos a la mayor concentración ($50 \mu\text{g/L}$) siguieron mostrando el efecto del metal a las 48 horas, pero no así a las 96, lo que nos hace pensar que el efecto de las distintas concentraciones no tiene por que ser aditivo y que a distintos niveles de concentración los mecanismos de respuesta pueden ser diferentes.

En cuanto a los organismos expuestos a cadmio en agua suave (Fig. 4b, tabla 5b), estos presentaron una tasa de extracción muy cercana a la de los testigos. El único momento en que el efecto del metal fue obvio se presentó a las 48 horas, punto en el que ambas concentraciones presentan valores significativamente mayores ($p < 0.05$).

Si se comparan el consumo de oxígeno con la tasa de extracción, se observa un comportamiento inverso de estos parámetros muy obvio en los grupos expuestos a cadmio en agua dura y suave, y menos obvio en el grupo de cromo en agua suave. A diferencia de lo anterior el grupo expuesto a cromo en agua dura presentó un comportamiento similar de ambos parámetros, ya que al subir o bajar uno, el otro también lo hace.

Este comportamiento nos indica que los animales han puesto en marcha aquellos mecanismos que hacen más eficiente la captura del oxígeno (Hughes, 1976) como pueden ser un aumento en la frecuencia cardíaca, un aumento en el movimiento del escafognatito para promover que más agua tenga contacto con las branquias, una constricción de los vasos sanguíneos de las branquias para acelerar el paso de la hemolinfa y con esto el intercambio de oxígeno con el medio, y por último un aumento en la concentración de la hemocianina. Además los resultados anteriores parecen mostrar que los organismos expuestos a estas concentraciones y estos metales, son capaces de mantener cierto equilibrio, con excepción de los animales expuestos a cromo en agua suave, los cuales perecieron a las 72 horas.

a)



b)

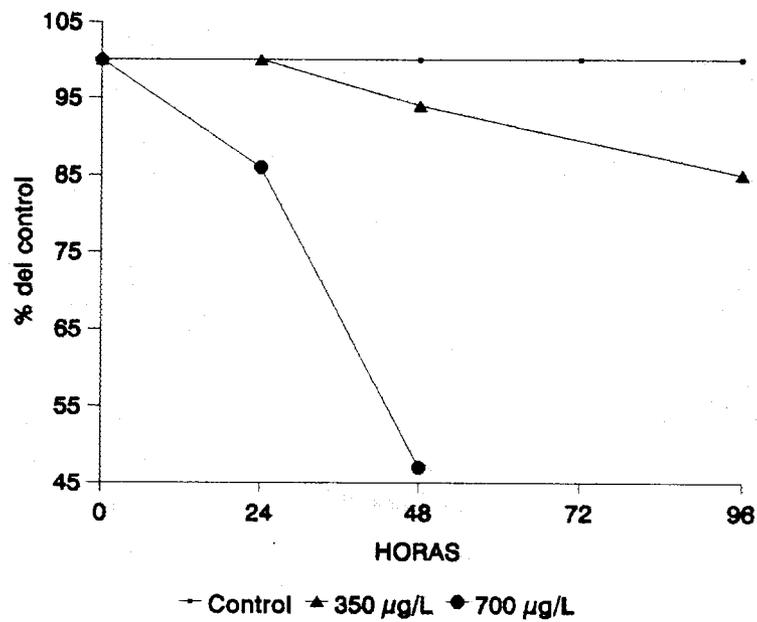


Fig. 1. Consumo de oxígeno de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 2. Consumo de oxígeno (mg/h*gps) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

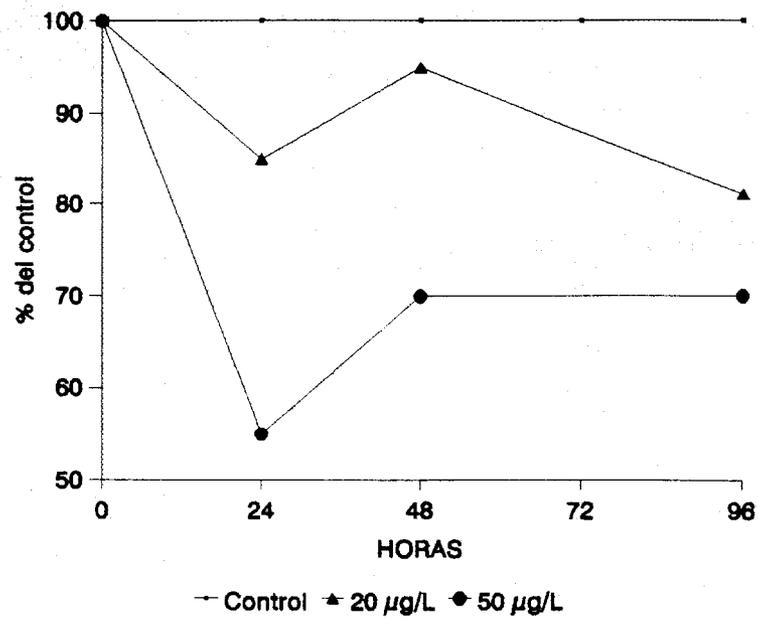
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	0.70 \pm 0.22	0.58 \pm 0.08	0.52 \pm 0.08	0.81 \pm 0.10
350	—	0.41 \pm 0.07	0.49* \pm 0.11	0.57 \pm 0.10
700	—	0.37 \pm 0.09	0.54* \pm 0.09	0.74* \pm 0.10

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	0.65 \pm 0.15	0.65 \pm 0.06	0.63 \pm 0.09	0.94 \pm 0.17
350	—	0.65 \pm 0.05	0.58* \pm 0.06	0.77* \pm 0.12
700	—	0.57* \pm 0.05	0.31* \pm 0.10	—

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

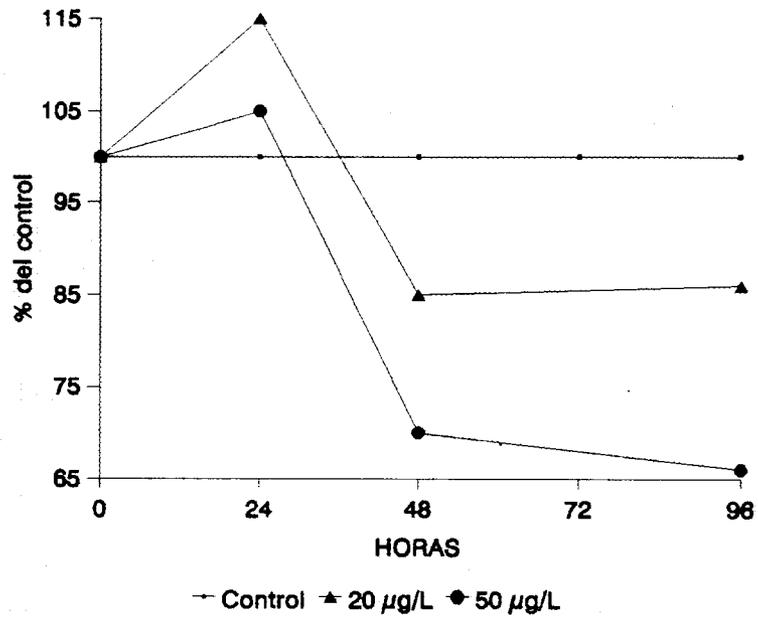


Fig. 2. Consumo de oxígeno de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 3. Consumo de oxígeno (mg/h*gps) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

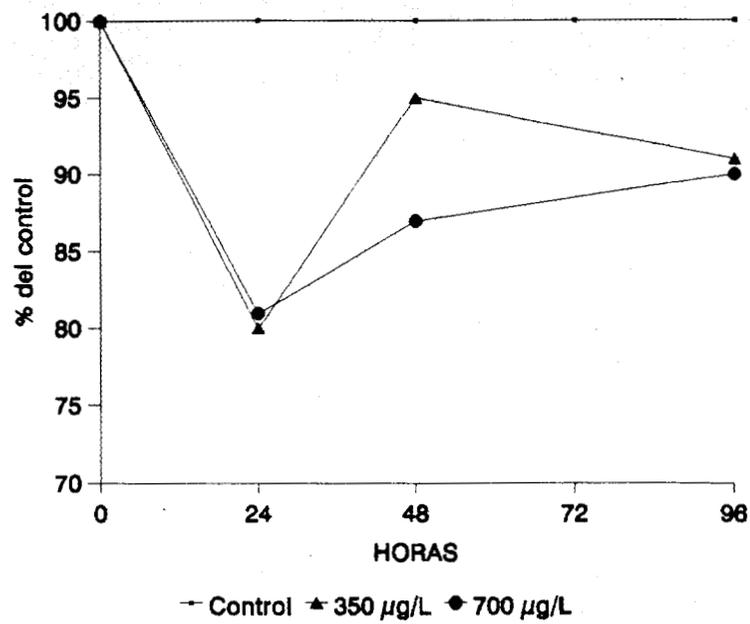
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	0.39 \pm 0.05	0.68 \pm 0.08	0.66 \pm 0.10	0.72 \pm 0.12
20	—	0.57 \pm 0.07	0.63 \pm 0.10	0.58 \pm 0.07
50	—	0.37* \pm 0.05	0.45* \pm 0.08	0.49* \pm 0.10

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	0.59 \pm 0.10	0.54 \pm 0.07	0.58 \pm 0.07	0.56 \pm 0.11
20	—	0.62 \pm 0.08	0.49 \pm 0.05	0.48 \pm 0.17
50	—	0.57 \pm 0.07	0.42* \pm 0.05	0.38* \pm 0.07

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

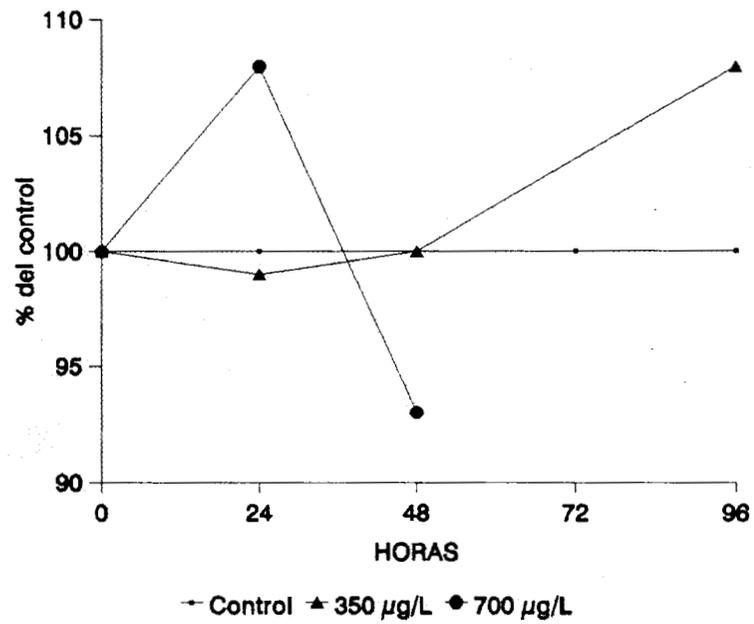


Fig. 3. Tasa de extracción de oxígeno de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 4. Tasa de extracción de oxígeno (mg/h*animal) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

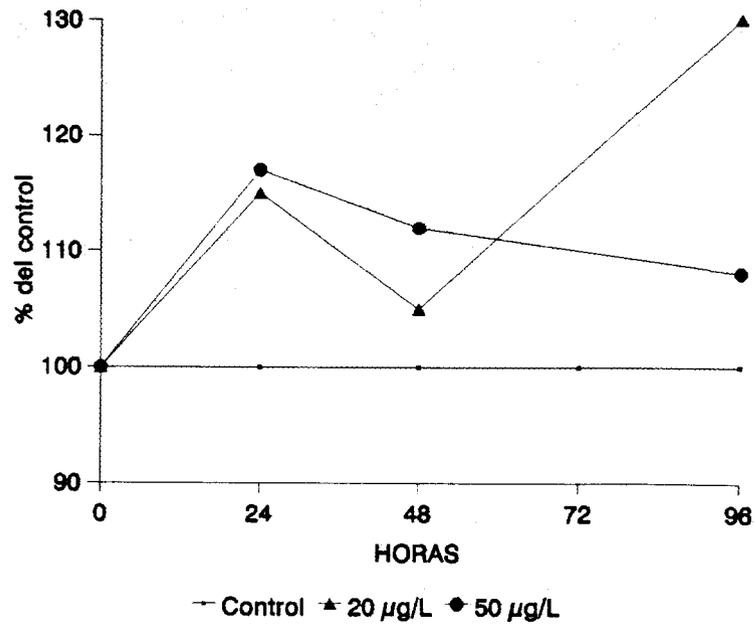
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	6.86 \pm 0.00	6.40 \pm 0.00	5.41 \pm 0.00	7.47 \pm 0.00
350	—	4.09* \pm 0.00	4.84 \pm 0.00	6.37 \pm 0.00
700	—	4.21* \pm 0.02	4.23* \pm 0.00	6.16 \pm 0.00

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	9.52 \pm 0.02	8.38 \pm 0.00	9.33 \pm 0.00	7.51 \pm 0.00
350	—	8.32 \pm 0.00	9.49 \pm 0.00	8.83 \pm 0.00
700	—	9.74 \pm 0.00	8.15 \pm 0.00	—

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

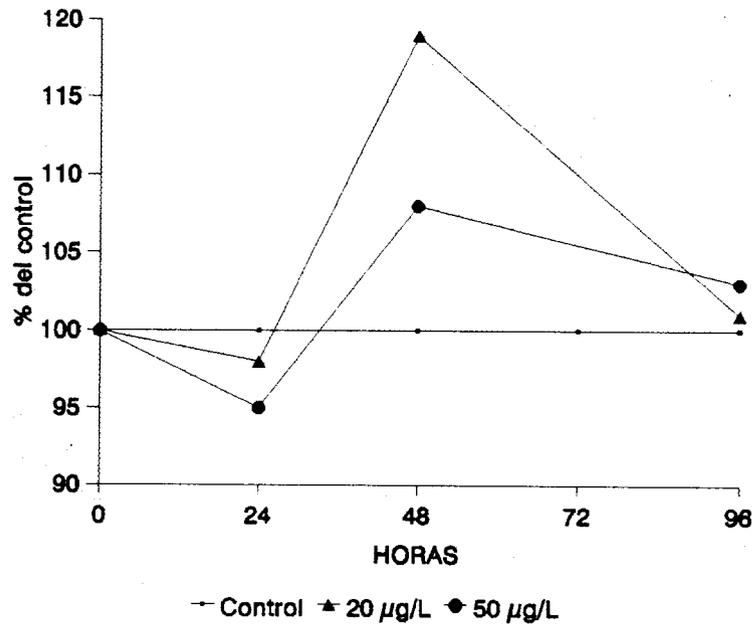


Fig. 4. Tasa de extracción de oxígeno de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 5. Tasa de extracción de oxígeno (mg/h*animal) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	4.51 \pm 0.00	5.12 \pm 0.00	6.43 \pm 0.00	5.02 \pm 0.00
20	—	4.25* \pm 0.00	7.06 \pm 0.00	8.43* \pm 0.00
50	—	7.05* \pm 0.00	7.99* \pm 0.00	5.72 \pm 0.00

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	9.81 \pm 0.01	7.98 \pm 0.00	4.34 \pm 0.00	4.86 \pm 0.00
20	—	7.53 \pm 0.00	6.05* \pm 0.00	4.93 \pm 0.00
50	—	7.05 \pm 0.00	5.04* \pm 0.00	5.13 \pm 0.00

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

3.4 Permeabilidad al sodio

Los metales son tóxicos para los organismos acuáticos debido a su actividad sobre la superficie de las branquias, ya que dañan las membranas epiteliales y desajustan la habilidad de las branquias para regular los iones (González et al, 1990). Además los animales de agua dulce viven en un ambiente hipotónico en el cual deben absorber activamente sales y excretar agua para mantener los fluidos corporales hipertónicos con el ambiente; cualquier alteración en su habilidad osmorreguladora puede provocar problemas fisiológicos muy severos (Packer y Dunson, 1970).

Los datos obtenidos en los ensayos con cromo (Fig. 5, tabla 6) mostraron que la mayor pérdida de sodio en ambas exposiciones ocurrió a las 24 horas. En el caso de los animales expuestos a cromo en agua dura (Fig. 5a, tabla 6a) después de las 24 horas, los bajos valores del sodio indicaron que la permeabilidad fue alterada de tal manera que los organismos habían perdido gran parte de este ión durante la exposición, y por consiguiente al llegar a este experimento los promedios obtenidos fueron menores que el del grupo control para ambas concentraciones.

Por otra parte los organismos expuestos en agua suave (Fig. 5b, tabla 6b) a $350 \mu\text{g/L}$ de cromo, mostraron un valor menor ($5.8 \times 10^{-4} \text{ mmol/L}$) que el control ($16.1 \times 10^{-4} \text{ mmol/L}$), pero a las 96 horas el valor de este grupo ($0.76 \times 10^{-4} \text{ mmol/L}$) sobrepasa al control ($0.55 \times 10^{-4} \text{ mmol/L}$). De manera similar el grupo expuesto a la mayor concentración ($700 \mu\text{g/L}$) mostró a las 48 horas un valor mayor ($24.27 \times 10^{-4} \text{ mmol/L}$) que el de los testigos ($16.1 \times 10^{-4} \text{ mmol/L}$). Este comportamiento pudiera ser causado por una transferencia de iones de

otras partes del cuerpo a la hemolinfa y de esta a las células epiteliales, de tal manera que la disponibilidad de sodio para perderse al medio se incrementa (Gagen y Sharpe, 1987).

Los animales expuestos a cadmio (Fig. 6, tabla 7) pierden la mayor cantidad de sodio en las primeras 24 horas. Para el caso de los organismos expuestos a 20 $\mu\text{g/L}$ de cadmio en agua dura (Fig. 6a, tabla 7a) a las 48 horas presentaron un valor mayor (42×10^{-4} mmol/L) que los testigos (30×10^{-4} mmol/L), de igual manera a las 96 horas este valor (91×10^{-4} mmol/L) es mayor que el de los controles (63×10^{-4} mmol/L). Los animales expuestos a 50 $\mu\text{g/L}$ también presentaron un valor mayor (64×10^{-4} mmol/L) que el del control a las 48 y a las 96 horas.

La exposición a cadmio en agua suave (Fig. 6b, tabla 7b) resultó más drástica que la anterior a las 24 horas, ya que en ambas concentraciones los valores de sodio son muy altos (13.9 y 39.2×10^{-4} mmol/L) respecto al control (1.7×10^{-4} mmol/L). Sin embargo aquellos langostinos expuestos a la menor concentración presentaron valores muy cercanos a los de los testigos a las 48 y 96 horas, lo cual coincide con lo observado por Torreblanca et al (1989) quienes no encontraron un efecto en las enzimas involucradas en la permeabilidad, pero sí alteraciones morfológicas de las branquias por exposición a metales (Torreblanca et al, 1987), por lo que no se puede decir que estos datos demuestren una recuperación de la permeabilidad. Por su parte los animales expuestos a 50 $\mu\text{g/L}$, a las 48 horas presentaron un valor mayor (24.9×10^{-4} mmol/L) que el de los testigos (7.3×10^{-4} mmol/L), pero menor que el de las 24 horas; sin embargo a las 96 horas el valor de este grupo (30×10^{-4} mmol/L) se encontró por debajo del grupo control (48×10^{-4} mmol/L).

3.5 Permeabilidad al potasio

En el caso de los organismos expuestos a cromo en agua dura (Fig. 7a, tabla 8a) es muy probable que la mayor salida de potasio haya ocurrido antes de las 24 horas, lo cual demostró que la estructura de las branquias estaba alterada, ya que estas son semipermeables al potasio. En la concentración de 700 $\mu\text{g/L}$ se observó la pérdida de este ión aumentó conforme transcurrió la exposición. Sin embargo, los animales expuestos a 350 $\mu\text{g/L}$ no presentaron un patrón de pérdida de potasio tan claro, ya que esta disminuye entre las 24 y 48 horas, para posteriormente aumentar a las 96 horas. De cualquier manera en ambos casos se puede sugerir nuevamente la hipótesis de que estos iones son el resultado de un transporte desde otras partes del cuerpo del organismo.

En los organismos expuestos a cromo en agua suave (Fig. 7b, tabla 8b) de ambas concentraciones también parece que la mayor salida de potasio ocurrió antes de las 24 horas. En los experimentos a la menor concentración el valor de las 24 horas (0.71 mmol/L) es menor que el del grupo control (0.83 mmol/L), sin embargo a las 48 horas se observó un mayor flujo de potasio (0.25 mmol/L) que en los testigos (0.18 mmol/L), pero para las 96 horas este valor vuelve a bajar. En los langostinos expuestos a 700 $\mu\text{g/L}$ la pérdida de potasio es menor conforme pasa el tiempo, y ya que estos organismos mueren antes de las 96 horas, la pérdida continua de sodio y potasio puede explicar su muerte entre otras cosas.

La manera en que se pierde el potasio en los organismos expuestos a cadmio en agua dura (Fig. 8a, tabla 9a) es un punto más a favor de la hipótesis de que para compensar

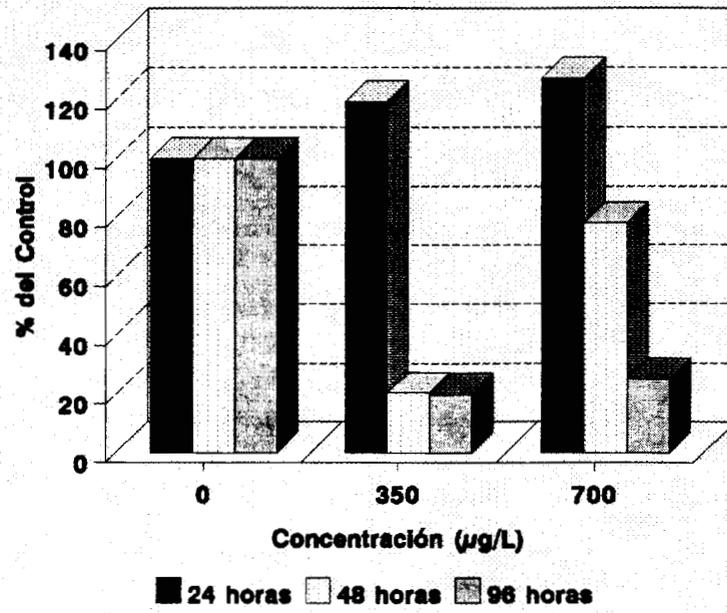
la pérdida de iones, estos pueden ser movilizados desde otras partes del cuerpo, y son perdidos posteriormente a través de los epitelios (Vangenechtgen y Vanderborght, 1980), ya que para ambas concentraciones una gran pérdida de potasio parece ocurrir antes de las 24 horas y posteriormente aunque comiezo con valores menores que los de los testigos, conforme pasa el tiempo la salida de este ión aumenta.

Para el caso de los organismos expuestos a cadmio en agua suave (Fig. 8b y tabla 9b) la mayor pérdida de potasio ocurre a las 24 horas para la menor concentración y a las 24 y 48 horas para la mayor. Posteriormente en ambos casos la pérdida de potasio es menor, ya que seguramente este ión se perdió en su mayoría en el agua de exposición.

La pérdida de sodio por efecto de la exposición a metales ha sido reportada en peces (Gagen y Sharpe, 1987; Gonzalez et al, 1990; Grippo y Dunson, 1991) y en invertebrados ((Witters et al, 1985; Havas, 1985). Esto coincide con lo que en estos ensayos se pudo comprobar, ya que concentraciones subletales de cadmio y cromo provocaron una pérdida de sodio y potasio en los langostinos; esto es importante porque estas pérdidas pueden tener un gran efecto en la salud y el bienestar de los organismos acuáticos (Gonzalez et al, 1990) y cuando las pérdidas no son controladas los organismos mueren (Gagen y Sharpe, 1987).

En este caso se puede sugerir que el efecto de estos metales ocurre a nivel de la estructura propia de las células y a nivel de las Na-K-ATPasas, ya que estas enzimas juegan un papel importante en la manutención de la concentración de los iones en los organismos, lo cual coincide con lo reportado para el cangrejo *Scylla serrata* expuesto a cadmio, en el que una inhibición de estas enzimas fue observada (Dhavale et al, 1988).

a)



b)

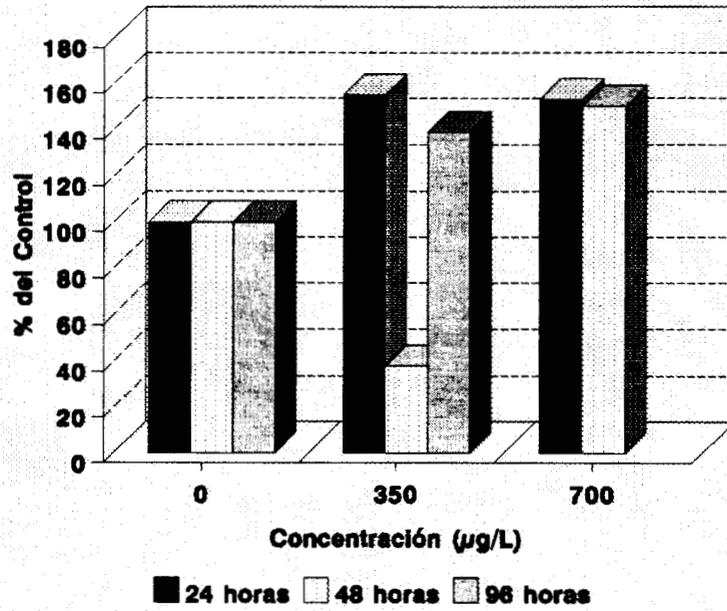


Fig. 5. Permeabilidad al sodio de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 6. Permeabilidad al sodio ($\text{mmol/L} \cdot 10^{-4}$) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

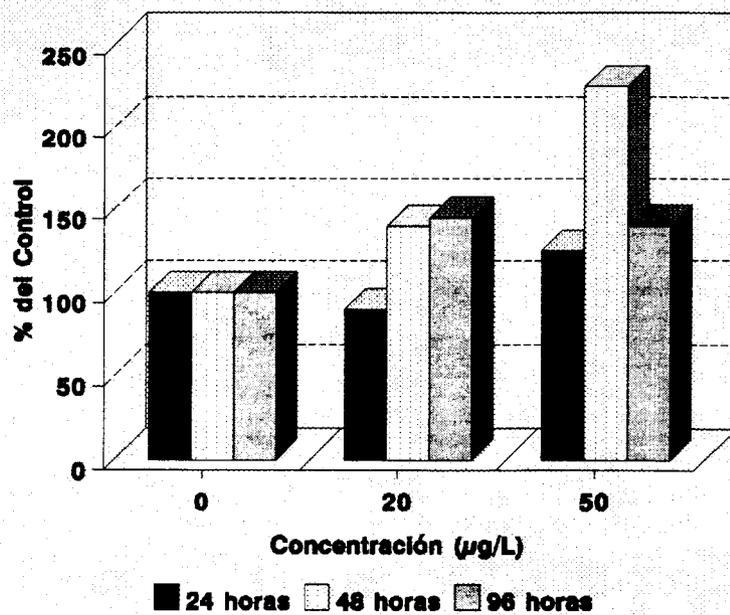
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	130.55 \pm 26.70	9.57 \pm 2.70	113.60 \pm 32.00	19.54 \pm 3.80
350	—	11.33 \pm 2.70	24.00* \pm 32.00	3.92* \pm 3.80
700	—	12.29* \pm 2.90	87.00* \pm 32.00	4.50* \pm 3.80

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96	
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)					
0		15.68 \pm 3.38	11.94 \pm 9.51	16.10 \pm 13.23	0.55 \pm 0.06
350		—	18.64 \pm 9.51	5.80* \pm 13.23	0.76 \pm 0.07
700		—	18.49 \pm 9.51	24.27 \pm 14.49	—

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

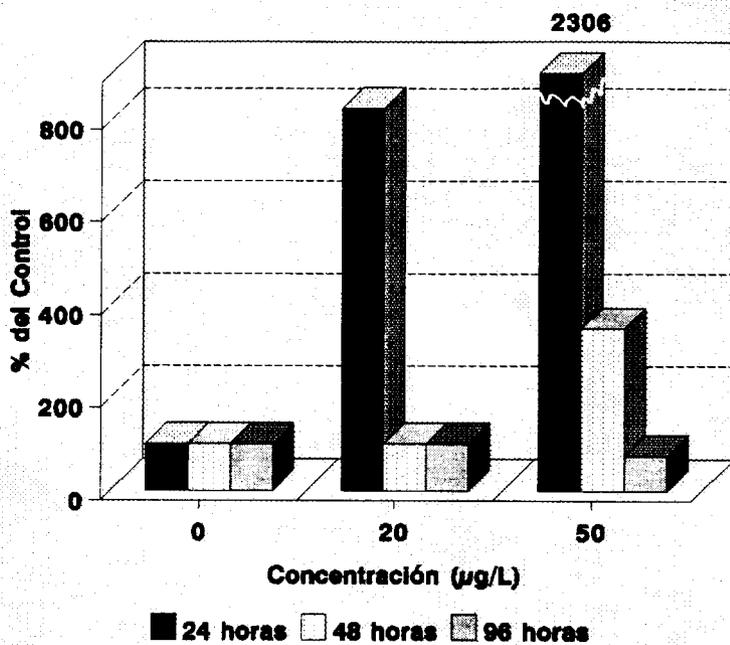


Fig. 6. Permeabilidad al sodio de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 7. Permeabilidad al sodio ($\text{mmol/L} \cdot 10^{-4}$) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

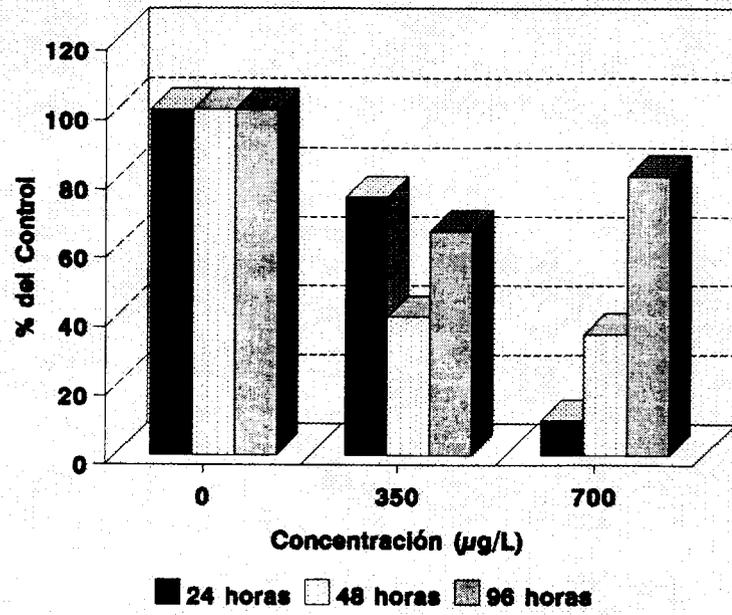
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	41.56 \pm 4.49	69.00 \pm 12.00	30.00 \pm 11.00	63.00 \pm 17.00
20	—	63.00 \pm 12.00	42.00 \pm 11.00	91.00 \pm 17.00
50	—	89.00 \pm 12.00	64.00* \pm 13.00	88.00 \pm 20.00

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	48.58 \pm 5.08	1.70 \pm 8.80	7.30 \pm 6.50	48.00 \pm 12.00
20	—	13.90 \pm 8.80	8.10 \pm 6.50	52.00 \pm 11.00
50	—	39.20* \pm 8.80	24.90* \pm 6.50	30.00 \pm 11.00

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

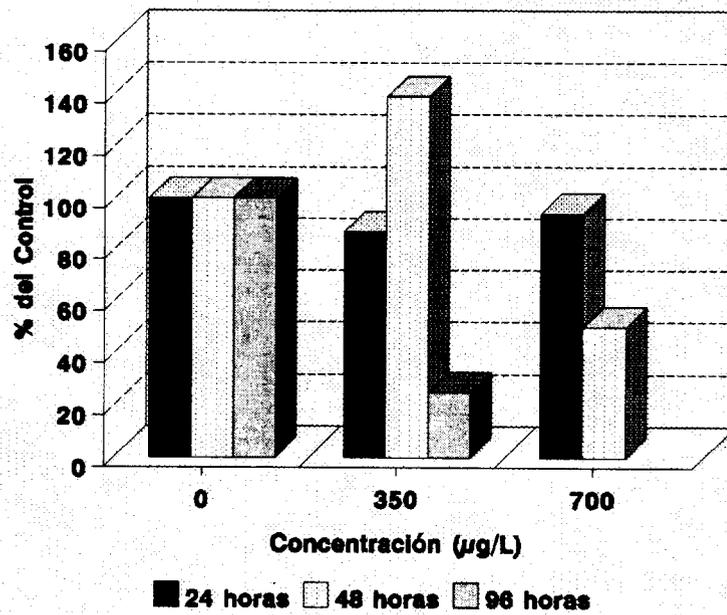


Fig. 7. Permeabilidad al potasio de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 8. Permeabilidad al potasio (mmol/L) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

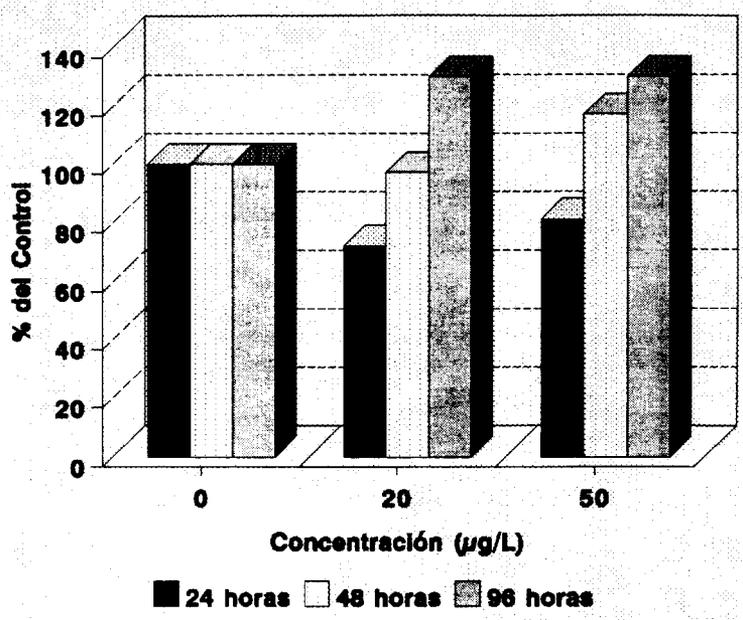
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	6.68 \pm 1.77	4.95 \pm 1.73	4.46 \pm 1.83	1.15 \pm 0.46
350	—	13.69 \pm 1.73	1.83* \pm 1.10	0.72 \pm 0.46
700	—	0.51* \pm 1.87	1.42 \pm 1.10	0.93 \pm 0.46

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	1.20 \pm 0.24	0.83 \pm 0.34	0.18 \pm 0.10	0.70 \pm 0.35
350	—	0.71 \pm 0.34	0.25 \pm 0.10	0.17 \pm 0.41
700	—	0.76 \pm 0.34	0.09 \pm 0.11	—

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

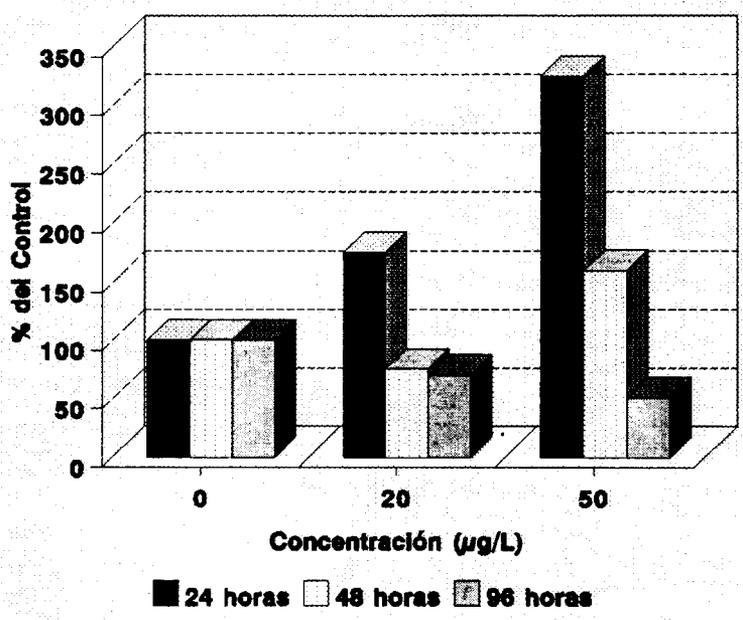


Fig. 8. Permeabilidad al potasio de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 9. Permeabilidad al potasio (mmol/L) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	0.73 \pm 0.50	1.12 \pm 0.15	0.81 \pm 0.21	1.29 \pm 0.31
20	—	0.83 \pm 0.14	0.78 \pm 0.21	1.68 \pm 0.30
50	—	0.92 \pm 0.14	0.93 \pm 0.24	1.72 \pm 0.40

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	1.07 \pm 0.09	0.19 \pm 0.15	0.45 \pm 0.09	0.74 \pm 0.12
20	—	0.34 \pm 0.15	0.36* \pm 0.09	0.56 \pm 0.11
50	—	0.60* \pm 0.15	0.74* \pm 0.09	0.38* \pm 0.11

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

3.6 Perdida del equilibrio TCM

La utilización de la TCM como criterio para evaluar el efecto tóxico de algunos contaminantes ha sido aplicado sobre todo en peces, por ejemplo la TCM de *Esox masquinongy* bajó al ser expuesto a concentraciones subletales de arsénico (Paladino y Spotila, 1978), de igual manera respondió *Pimephales promelas* al ser expuesto a concentraciones subletales de selenio (Watenpaugh y Beitingger, 1985); por último este mismo efecto fue observado en *Ictalurus punctatus* por exposición a nitritos (Watenpaugh et al, 1985). En invertebrados hay un menor número de reportes, entre los existentes encontramos el de Poulton et al (1989), quienes observaron que concentraciones subletales de cromo provocan una baja en la TCM de la mosca *Chioerla clio*.

Los resultados de la TCM de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a concentraciones subletales de cadmio y cromo, en general coincidieron con los reportes antes mencionados, pero como se verá hubo algunas excepciones. Por otra parte en estos experimentos se observó como los langostinos aumentaron su actividad conforme aumentó la temperatura; este aumento en la actividad estuvo asociado a un aumento de la velocidad de desplazamiento por el fondo, seguido de un nado vigoroso, lo cual es un comportamiento común en crustáceos expuestos a temperatura (Forey y Hoyle, 1976).

Los organismos expuestos a cromo en agua dura (Fig.9a, tabla 10a) comenzaron a mostrar el efecto de la exposición a las 48 horas, en ambas concentraciones la TCM fue significativamente menor que la del control, hasta en 1.5 °C para el caso del grupo expuesto a 700 µg/L ($p < 0.05$). A las 96 horas aunque ambas concentraciones presentaron prome-

dios de TCM menores que el de los testigos, solo en el caso de la mayor concentración (700 $\mu\text{g/L}$) la diferencia fue significativa ($p < 0.05$), lo que parece mostrar una relativa recuperación de aquellos organismos expuestos a 350 $\mu\text{g/L}$.

En los langostinos expuestos a cromo en agua suave (Fig. 9b y tabla 10b) el efecto se notó desde las 24 horas, ya que la TCM de ambas concentraciones fue significativamente menor ($p < 0.05$) en este punto. Los organismos de la mayor concentración (700 $\mu\text{g/L}$) murieron antes de las 96 horas por lo que el último registro se obtuvo a las 48 horas, este valor también fue significativamente menor ($p < 0.05$). Por su parte el grupo expuesto a 350 $\mu\text{g/L}$ mostró a las 48 horas una TCM significativamente diferente (36.33 °C), pero mayor que la del grupo control (35.56 °C) lo cual es un comportamiento notorio ya que la respuesta esperada es una disminución en la TCM. Los mecanismo involucrados en esta respuesta retardada pueden incluir un proceso de detoxificación que ha sido hechado a andar por efecto de la concentración, pero que no es suficientemente efectivo a largo plazo. Ya para las 96 horas el efecto del cromo fue muy evidente y se presentó la menor TCM de este grupo experimental (34.2 °C) siendo significativa la diferencia. Estos resultados nos hacen pensar que este grupo difícilmente podrá recuperarse.

Para el caso de los animales expuestos a cadmio en agua dura (Fig. 10a, tabla 11a), la menor concentración (20 $\mu\text{g/L}$) no mostró un efecto evidente sino hasta las 96 horas, con una diferencia pequeña (0.45 °C) pero significativamente menor ($p < 0.05$) respecto al control; para este grupo es factible pensar en una recuperación, ya que el efecto del cadmio no fue muy evidente. Sin embargo los organismos expuestos a 50 $\mu\text{g/L}$ presentaron desde las 24 horas una TCM menor (33.83 °C) y aunque la diferencia disminuyó con el tiempo, esta fue significativa durante toda la exposición, por lo que es difícil proponer si estos

animales tienen la posibilidad de recuperarse.

Por su parte los organismos expuestos a cadmio en agua suave (Fig. 10b, tabla 11b) presentaron un comportamiento muy similar entre ellos, es decir, a las 24 horas ambos grupos presentaron un promedio de TCM menor que el del control pero no significativamente diferente ($p > 0.05$). El efecto más drástico de la exposición se presentó a las 48 horas con valores de TCM menores que los del grupo control ($p < 0.05$). Un punto interesante es lo ocurrido a las 96 horas ya que la pérdida de equilibrio ocurre después que en los testigos, por lo que nuevamente se presentó la posibilidad de la presencia de un mecanismo de detoxificación más efectivo en este caso, que en el de los animales expuestos a cromo en agua suave, que adicionalmente está provocando una respuesta retardada a la temperatura. Una hipótesis similar fue hecha para tratar de explicar por qué el pez *Lepomis cyanellus* no muestra una alteración de la TCM al ser expuesto a cadmio (Carrier y Beiting, 1988). También es de notar que esta respuesta inversa se presentó para el caso de las exposiciones en agua suave, por lo que la dureza debe estar involucrada en el disparo de este mecanismo, el cual pareciera tratar de contrarrestar el efecto tóxico de los metales en bajas durezas; ya que a mayores durezas la entrada de los metales se ve disminuida por efecto del calcio y de la posible quelación de estos (Black et al, 1973).

De los resultados anteriores es evidente el efecto protector del agua dura, ya que de los cuatro grupos expuestos, solo el de la menor concentración de cromo ($350 \mu\text{g/L}$) en agua dura presenta una recuperación evidente a las 96 horas. Esto coincide con numerosos reportes como el de Müller (1980) en los que se ha observado un aumento de la LC50 con el aumento de la dureza del agua.

3.7 Temperatura de muerte

La muerte de los organismos expuestos a cromo en agua dura (Fig. 11a, tabla 12a) a las 24 horas fue posterior a la de los testigos ($p < 0.05$), esta observación es peculiar porque en este período la TCM no muestra un efecto significativo, por lo que hasta el momento no hemos encontrado una explicación para este comportamiento. Sin embargo a partir de las 48 horas y hasta las 96 horas el estrés al que estuvieron sujetos estos animales y la desorganización de su metabolismo era tal que la muerte ocurrió antes que la de los testigos, siendo más evidente ($p < 0.05$) el efecto en la menor concentración ($350 \mu\text{g/L}$) a las 48 horas y en la mayor ($700 \mu\text{g/L}$) a las 96 horas.

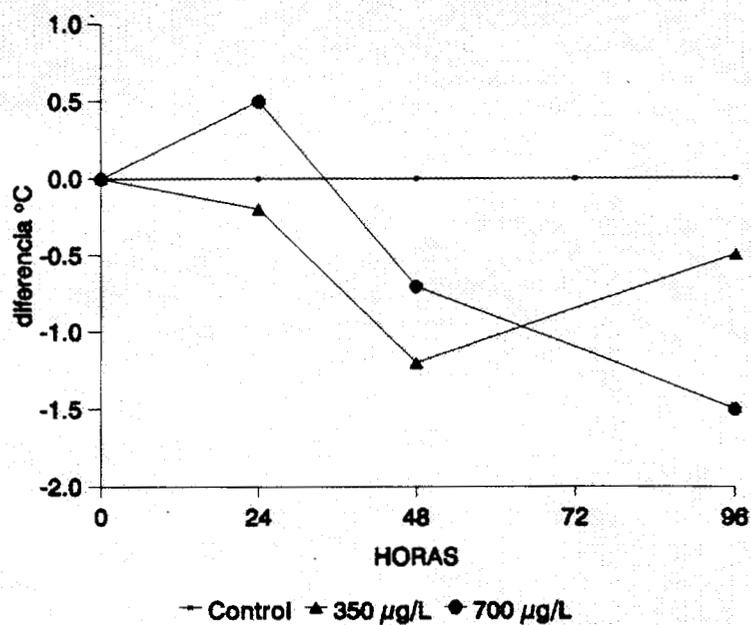
En los animales expuestos a cromo en agua suave (Fig. 11b, tabla 12b) la temperatura de muerte fue menor que la de los testigos a lo largo de toda la exposición; en la menor concentración ($350 \mu\text{g/L}$) la diferencia creció con el tiempo y ya para las 96 horas era muy grande, con $3.0 \text{ }^\circ\text{C}$ menos que el control ($p < 0.05$). La concentración de $700 \mu\text{g/L}$ resultó aún más agresiva y la temperatura de muerte de estos animales se presenta hasta $2.7 \text{ }^\circ\text{C}$ (24 horas) antes que la de los controles ($p < 0.05$).

En cuanto a la exposición a cadmio en agua dura (Fig. 12a, tabla 13a), solo los organismos expuestos a la mayor concentración ($50 \mu\text{g/L}$) mostraron un efecto significativo ($p < 0.05$), lo cual ocurrió a las 24 horas con un temperatura de muerte $2.97 \text{ }^\circ\text{C}$ menor que la de los testigos. Sin embargo esta diferencia no se volvió a presentar a lo largo del experimento.

Por último los langostinos expuestos a cadmio en agua suave (Fig. 12b, tabla 13b) siempre murieron a temperaturas menores que los controles, pero esto solo fue significativo ($p < 0.05$) a las 48 horas para el grupo expuesto a $20 \mu\text{g/L}$.

Los resultados de la temperatura de muerte parecen indicar que el efecto del cadmio y el cromo es distinto y que el segundo es más tóxico que el primero, lo cual es contrario al conocimiento general de que el cadmio es más tóxico que el cromo para los animales acuáticos (Botello y Paez, 1987). Lo que pudiera estar sucediendo es que a niveles subletales el efecto de los metales puede ser distinto que a niveles letales. En el caso del cromo como se trata de un ión bioindispensable, a niveles subletales puede estar entrando al organismo con mayor facilidad sin disparar los mecanismos de respuesta a una intoxicación aguda como en el caso de niveles letales. Por otra parte los resultados nos llevan a la conclusión de que la TCM es un mejor indicador de estrés que la temperatura de muerte, sin que esta última deje de ser útil.

a)



b)

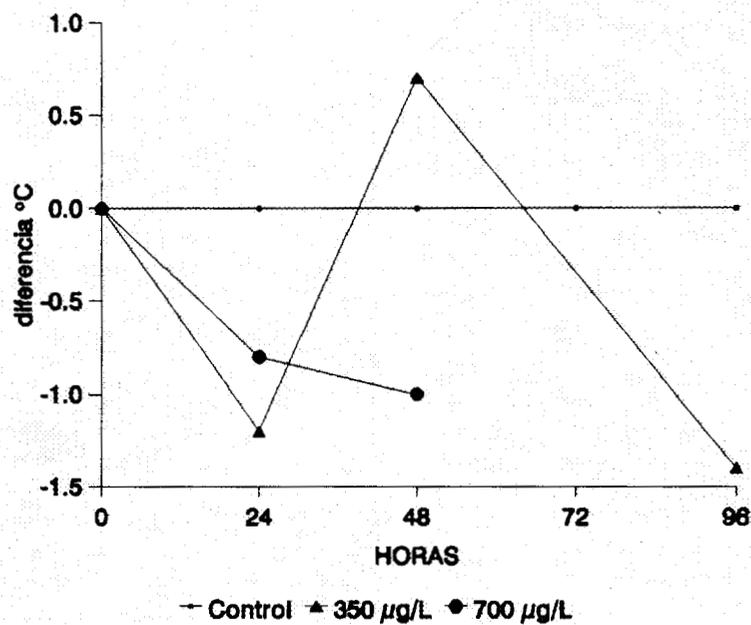


Fig. 9. Temperatura Crítica Máxima (TCM) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo en:

a) agua dura y b) agua suave

Tabla 10. Temperatura crítica máxima (°C) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

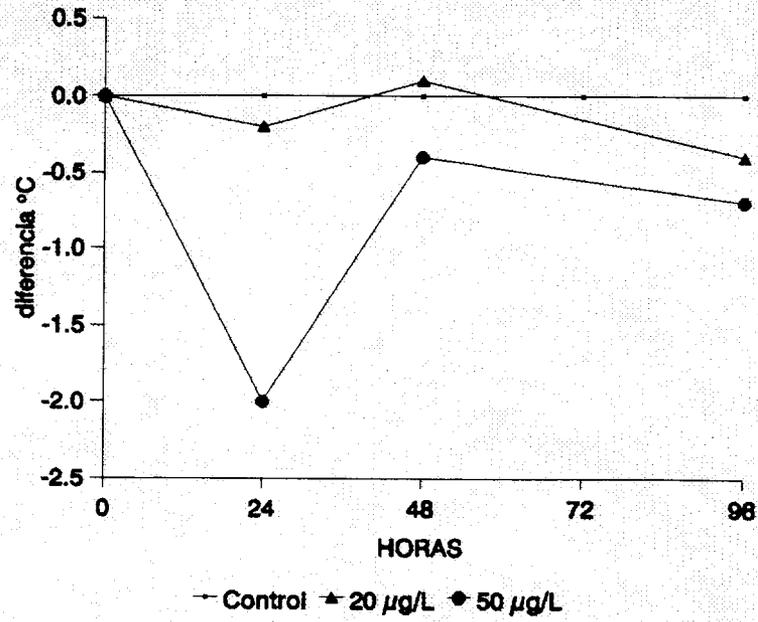
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	35.22 \pm 0.22	35.50 \pm 0.48	35.25 \pm 0.27	35.44 \pm 0.29
350	—	35.30 \pm 0.42	34.00* \pm 0.30	35.10 \pm 0.18
700	—	36.00 \pm 0.29	34.60* \pm 0.27	33.90* \pm 0.23

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	35.40 \pm 0.48	36.11 \pm 0.20	35.56 \pm 0.24	36.60 \pm 0.22
350	—	34.89* \pm 0.39	36.33* \pm 0.47	34.20* \pm 0.58
700	—	35.25* \pm 0.16	34.50* \pm 0.50	—

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

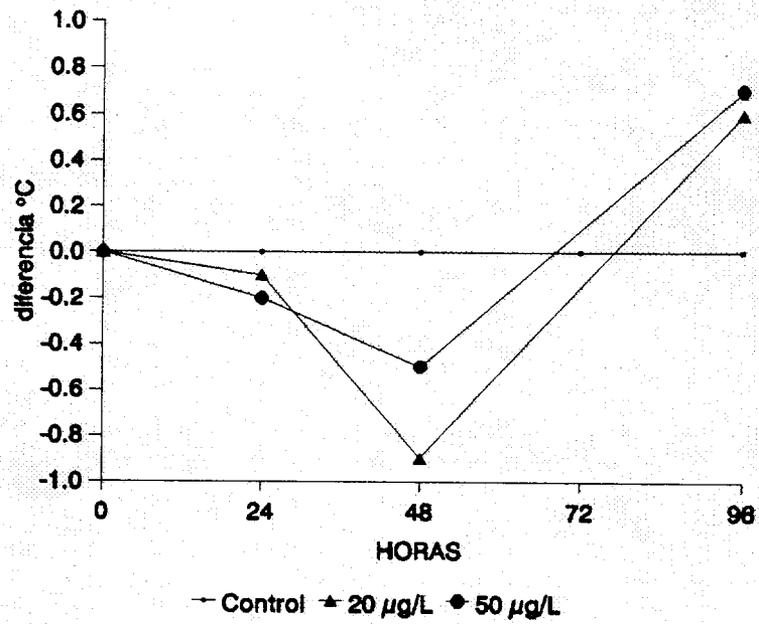


Fig. 10. Temperatura Crítica Máxima (TCM) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio en:

a) agua dura y b) agua suave

Tabla 11. Temperatura crítica máxima (°C) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

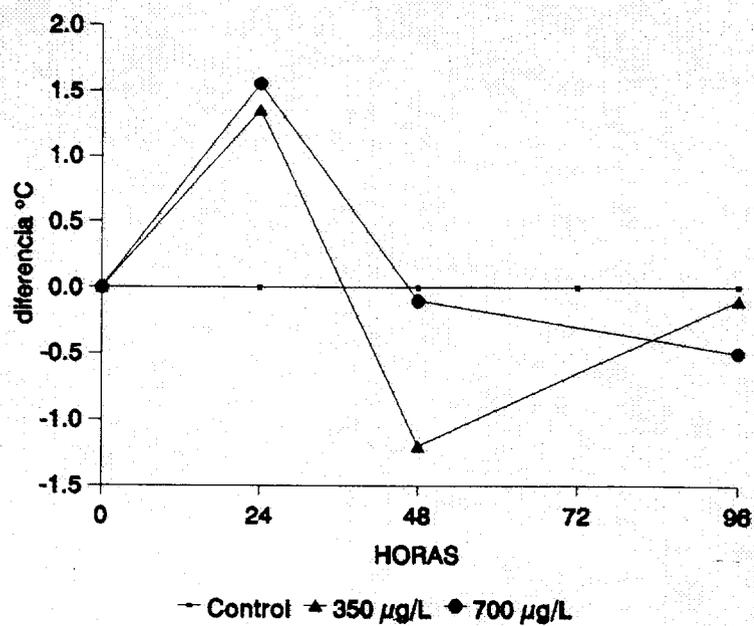
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	35.90 \pm 0.18	35.80 \pm 0.25	36.00 \pm 0.00	35.35 \pm 0.15
20	—	35.50 \pm 0.34	36.10 \pm 0.18	34.90* \pm 0.16
50	—	33.83* \pm 1.25	35.60* \pm 2.45	34.60* \pm 0.19

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	35.65 \pm 0.18	34.00 \pm 0.17	34.63 \pm 0.16	34.86 \pm 0.32
20	—	33.90 \pm 0.10	33.75* \pm 0.13	35.50* \pm 0.12
50	—	33.83 \pm 0.12	34.05* \pm 0.05	35.57* \pm 0.20

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

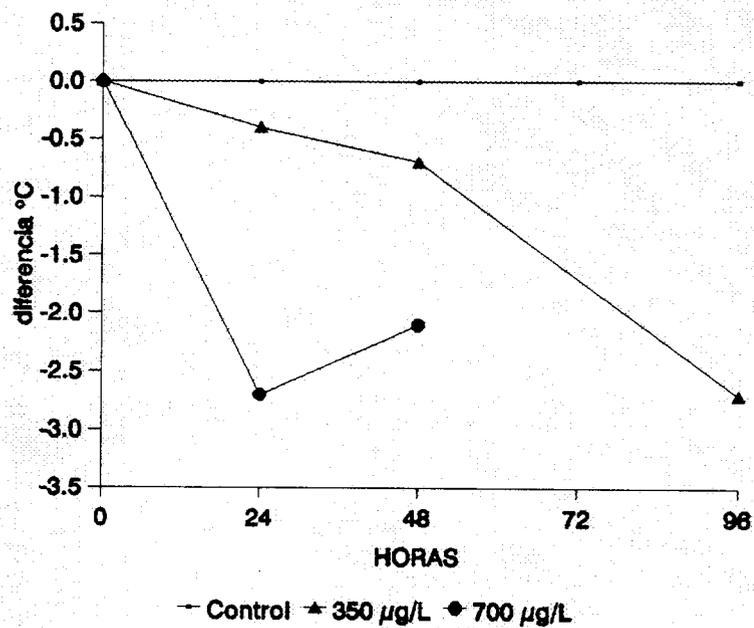


Fig. 11. Temperatura de Muerte de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 12. Temperatura de muerte (°C) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cromo (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

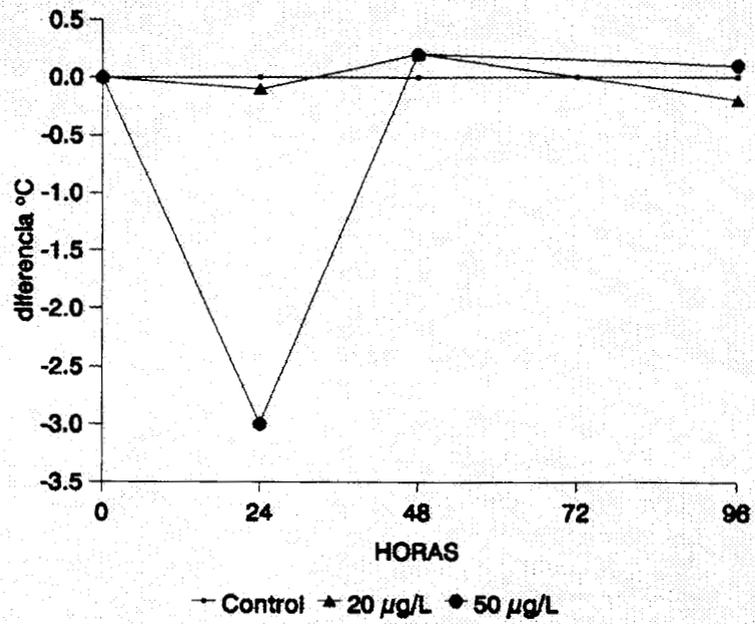
TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	41.33 \pm 0.44	40.10 \pm 0.41	40.50 \pm 0.31	41.11 \pm 0.11
350	—	41.50* \pm 0.58	39.30* \pm 0.42	41.00 \pm 0.56
700	—	41.67* \pm 0.44	40.30 \pm 0.54	40.50* \pm 0.27

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	41.20 \pm 0.25	42.56 \pm 0.17	42.22 \pm 0.36	42.20 \pm 0.25
350	—	42.11* \pm 0.11	41.33 \pm 0.53	39.20* \pm 1.20
700	—	39.86* \pm 1.08	40.00* \pm 0.00	—

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

a)



b)

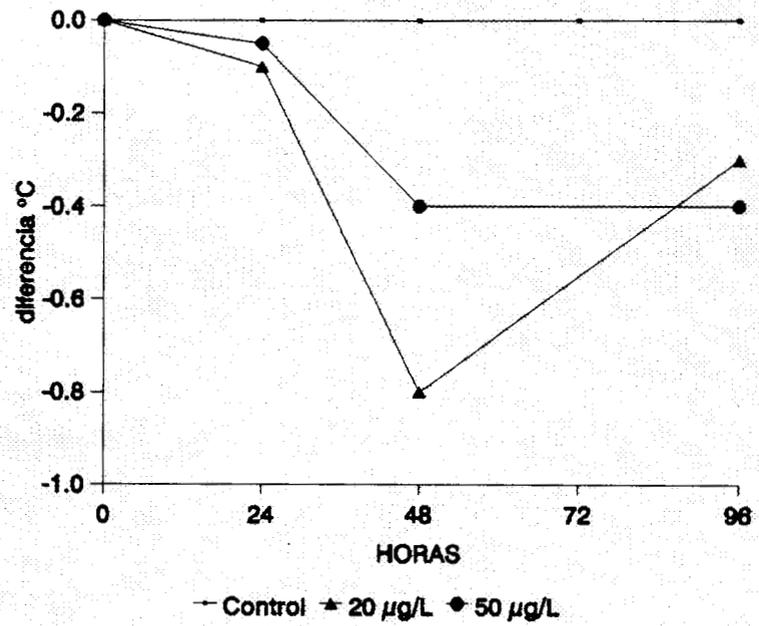


Fig. 12. Temperatura de Muerte de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio en:
a) agua dura y b) agua suave

Tabla 13. Temperatura de muerte ($^{\circ}\text{C}$) de *Macrobrachium rosenbergii* expuesto a cadmio (Promedio \pm error estándar).

a) agua dura

TIEMPO (Hrs)	0	24	48	96
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)				
0	42.50 \pm 0.17	42.80 \pm 0.13	42.20 \pm 0.13	42.10 \pm 0.10
20	—	42.70 \pm 0.26	42.40 \pm 0.27	41.80 \pm 0.28
50	—	39.83* \pm 1.38	42.40 \pm 0.24	42.20 \pm 0.20

b) agua suave

TIEMPO (Hrs)		24	48	96	
CONCENTRACION ($\mu\text{g/L}$)					
0		41.20 \pm 0.13	41.60 \pm 0.15	41.63 \pm 0.18	41.79 \pm 0.24
20		—	41.50 \pm 0.17	40.80* \pm 0.19	41.50 \pm 0.22
50		—	41.56 \pm 0.19	41.20 \pm 0.25	41.40 \pm 0.21

* marca los grupos estadísticamente diferentes del control ($p < 0.05$).

Capítulo 4

Diagnóstico general

Los efectos observados en estos experimentos demostraron que tanto el cadmio como el cromo en las concentraciones subletales utilizadas, provocan alteraciones en la fisiología del langostino *Macrobrachium rosenbergii*, y que estas alteraciones pueden a largo plazo causarle problemas de sobrevivencia.

Otro efecto que fue claramente observado fue el papel protector de la dureza del agua en la exposición a los metales pesados; esto fue demostrado claramente por los resultados de la exposición a cromo, ya que en agua suave los organismos murieron antes de las 96 horas. Además en general la pérdida del ión potasio en agua dura se mantenía en niveles altos hasta las 96 horas, lo cual no ocurría en agua suave, y por último el único grupo que mostró una recuperación de la TCM fue el expuesto a 350 $\mu\text{g}/\text{L}$ de cromo en agua dura.

Por otra parte los resultados de los diferentes experimentos mostraron que las respuestas

pueden ser distintas no solo entre metales sino también entre concentraciones del mismo metal, lo cual puede deberse a que los mecanismos de respuesta son distintos a diferentes niveles de exposición.

Los parámetros fisiológicos que se observaron tienen una relación directa entre sí ya que todos dependen del bienestar funcional de las branquias (Fig. 13). Esto es muy claro en el caso de la respiración y la permeabilidad porque en las branquias es donde se llevan a cabo estos procesos. Sin embargo también la TCM y la Temperatura de muerte dependen del funcionamiento de las branquias, ya que según Bowler (1981) la muerte por calor es causada primeramente por un desajuste de las membranas branquiales, lo que altera la permeabilidad y posteriormente causa cambios en la concentración de iones en la hemolinfa y esto tiene efecto sobre las funciones de los músculos y el sistema nervioso central, hasta que sobreviene la muerte del organismo.

El consumo de oxígeno por si mismo demostró que era probable la recuperación de algunos grupos, como los expuestos a cromo y cadmio en agua dura. Esta teoría también era apoyada por los resultados de la tasa de extracción ya que a las 96 horas, este parámetro no mostraba diferencias significativas respecto a los controles. Sin embargo tanto los resultados de la permeabilidad como los de la TCM mostraban que el efecto de los metales si podía tener consecuencias graves.

La determinación de la TCM fue un buen indicador de estrés, ya que en general los valores demostraron que los animales se encontraban alterados. Sin embargo en los grupos expuestos a agua suave se presentó la pérdida del equilibrio posterior a la de los testigos en algunos puntos. Esto no ha sido reportado a la fecha en la literatura. A pesar de este

detalle la TCM demostró ser un mejor indicador de estrés que el consumo y la tasa de extracción de oxígeno.

Estas diferencias pueden deberse a que aunque los mecanismos involucrados en estas respuestas residen en las branquias, estos no son los mismos y aquellos involucrados en la respiración son menos afectados.

De igual manera se considera que la TCM es mejor indicador que la temperatura de muerte, sobre todo por que esta última en algunos casos ocurrió después en los organismos expuestos; esta respuesta también fue observada en peces expuestos a detergente (Rosas, comunicación directa), pero aún no se tiene explicación para ello.

Por su parte la permeabilidad demostró estar alterada en todos los casos. En algunos puntos se hipotetizó que la pérdida más importante de iones ocurría en las primeras 24 horas, por lo que el seguimiento cuidadoso de este período debe ser considerado en futuras investigaciones.

Aunque existe cierto riesgo en aplicar los resultados de los estudios de laboratorio directamente a las condiciones ambientales, estos pueden aislar los efectos de algunos factores estresantes. Además este paso es necesario e interpretado con cuidado puede producir resultados legítimos y significativos (Thurberg, 1973).

Los indicadores de estrés utilizados en este estudio demostraron ser útiles, sobre todo porque se les midió al mismo tiempo y aunque el consumo y la tasa de extracción no se

alteraron de manera significativa con las concentraciones utilizadas, tanto la TCM como la medición de la permeabilidad branquial nos permitieron observar las alteraciones que los organismos sufrieron. Por lo tanto consideramos que por si solo ninguno de estos indicadores es completamente confiable, pero utilizados al mismo tiempo permiten un diagnóstico muy efectivo. Por lo que aún nos encontramos en la búsqueda de un indicador confiable y fácil de medir.

En el caso de este estudio se puede decir que las concentraciones utilizadas, aunque son subletales en 4 días, pueden causar serios problemas si se encontraran en las aguas donde se cultivan estos organismos. Aún más en la actualidad en México no existen valores máximos para estos metales en los criterios ecológicos de calidad del agua para uso en la acuicultura del langostino (SEDUE, 1989), por lo que se recomienda que se continuen haciendo estudios como el presente, pero con concentraciones aún más bajas.

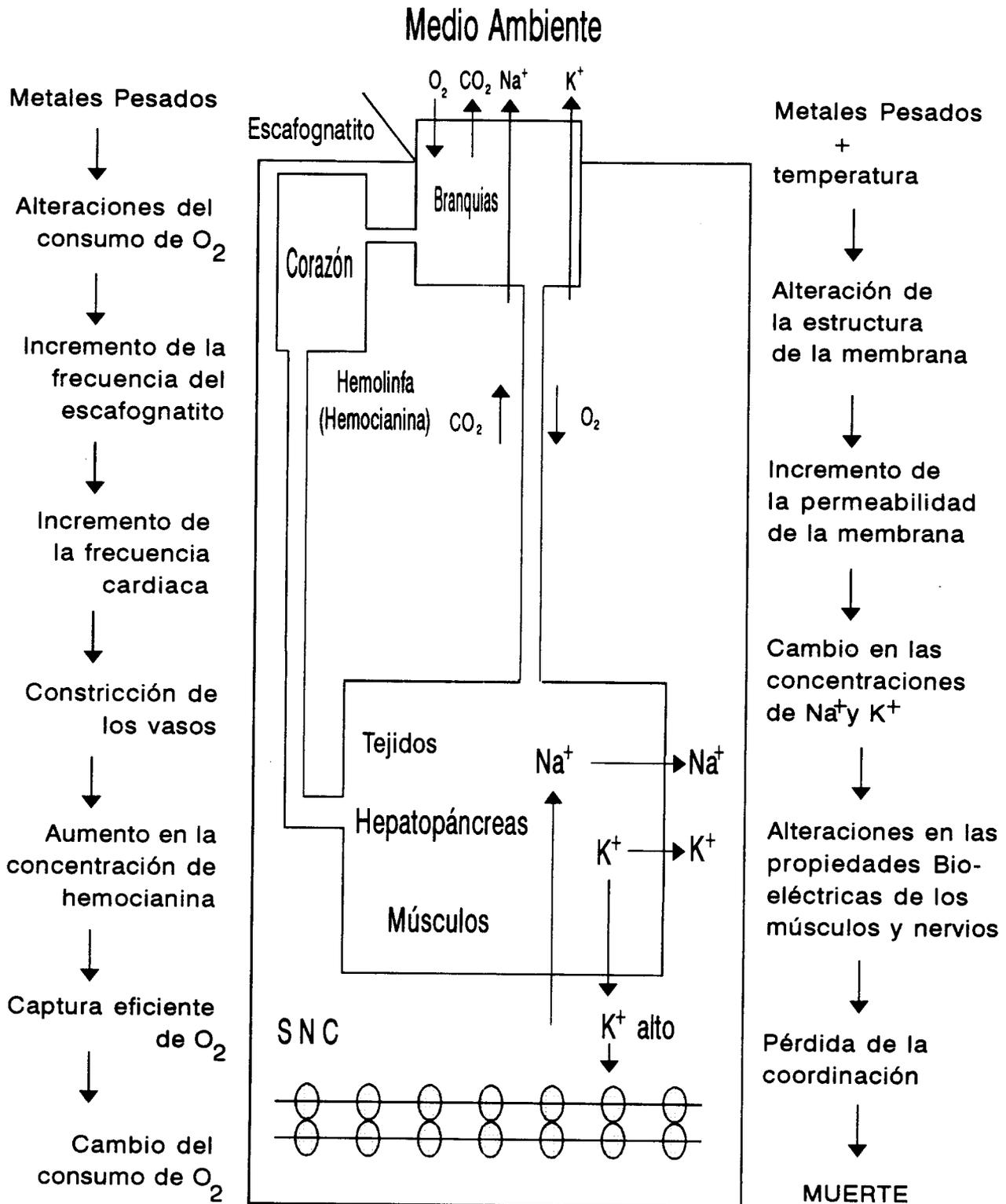


Fig. 13. Esquema de los eventos propuestos para una exposición a metales pesados. (Adaptado de Bowler, 1981)

Capítulo 5

Conclusiones

1. *Macrobrachium rosenbergii* es una buena especie para bioensayos con metales pesados.
2. El consumo y la tasa de extracción de oxígeno en general no mostraron el efecto de las concentraciones subletales de cadmio y cromo.
3. La permeabilidad al sodio y al potasio se alteraron en estos experimentos.
4. En general la TCM de los animales expuestos fue menor que la de los testigos, sin embargo la temperatura de muerte no resultó tan buen indicador de estrés.
5. Los parámetros fisiológicos observados tienen una relación directa entre sí, ya que todos dependen del bienestar funcional de las branquias.
6. Los mecanismos de respuesta a la intoxicación por metales pesados no solo dependen del metal del que se trate sino también de los niveles de concentración.
7. La utilización de diversos parámetros fisiológicos en la evaluación de los efectos de concentraciones subletales de contaminantes es necesaria, ya que aún no se cuenta con

alguno tan sensible como para expresar las consecuencias que a todo nivel ocurren.

Literatura citada

- [APHA, 1989] AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1989. *Standards methods for the examination of water and wastewater*. 18th. ed., Ed. American Public Health Association. Nueva York. 1130 p.
- [ARMSTRONG *et al*, 1976] ARMSTRONG, D.A., M.J. SEPHENSON y A.W. KNIGHT, 1976. Acute Toxicity of nitrite to larvae of the giant Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 9:39-46.
- [BADILLO, 1988] BADILLO, G.F., 1988. Contaminantes inorgánicos. El Cadmio. In: Albert, L.A. (Ed.), *Curso básico de toxicología ambiental*. Limusa. México. 105-121.
- [BLACK *et al*, 1973] BLACK, J.A., R.F. ROBERTS, D.M. JOHNSON, D.D. MINICUCCI, K.H. MANAY y H.E. ALLEIN, 1973. The significance of physico-chemical variables in aquatic bioassays of heavy metals. In: Glass, G.E. (Ed.) *Bioassay techniques and environmental chemistry*. Ann Arbor Science Pub. Inc., Michigan, 499 pp.
- [BOTELLO Y PAEZ, 1987] BOTELLO, A.V., y F. PAEZ., 1987. *El problema crucial: La contaminación*. Serie Medio Ambiente en Coatzacoalcos. Vol. 1. CECODES. México. 180 pp.

126945

- [BOWLER, 1981] BOWLER, K., 1981. Heat death and cellular heat injury. *J. Therm. Biol.* 16: 171-178.
- [CARRIER Y BEITINGER, 1988] CARRIER, R. Y T.L. BEITINGER, 1988. Resistance of temperature tolerance ability of green sunfish to cadmium exposure. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 40: 475-480.
- [CORBIN *et al*, 1983] CORBIN, J.S., M.M. FUJIMOTO y T.Y. IWAI Jr., 1983. Feeding practices and nutritional considerations for *Macrobrachium rosenbergii* culture in Hawaii. In: McVey J.P. (Ed.) *Handbook of Mariculture*. Vol 1. Crustacean aquaculture. CRC Press Inc., Florida. 391-412.
- [COX, 1974] COX, D.K., 1974. Effects of three heating rates on the critical thermal maximum of Bluegills. In: Gibbons, J.W. y R.R. Sharitz (Eds.) *Thermal ecology*. (Conf-730505). Nat. Tech. Inform. Serv., Springfield VA. 158-163.
- [DHAVALE *et al*, 1988] DHAVALE, D.M., V.B. MASUREKAR y B.A. GIRIDHAR, 1988. Cadmium induced inhibition of Na /K ATPase activity in tissues of crab *Scylla serrata* (Forsk.). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 40: 759-763.
- [EICHHORN, 1974] EICHHORN, G.L., 1974. Active sites of biological macromolecules and their interaction with heavy metals. In: McIntyre A.D. y C.F. Mills (Eds.) *Ecological toxicology research*. Plenum Press. New York. 123-142.
- [EPA, 1984a] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1984a. *Ambient water quality criteria for chromium*. U.S. EPA (440/5-84-029) Washington. 99 pp.
- [EPA, 1984b] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1984b. *Ambient water quality criteria for cadmium*. U.S. EPA (440/5-84-032) Washington. 127 pp.

- [EPA, 1989] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1989. *Short term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. U.S. EPA (600/4-89/001) Cincinnati. 241 pp.
- [FIGUEROA, 1988] FIGUEROA, , 1988. Contaminantes inorgánicos. El Cromo. In: Albert, L.A. (Ed.), *Curso básico de toxicología ambiental*. Limusa. México. 105-121.
- [FOREY Y HOYLE, 1976] FOREY E. Y G. HOYLE, 1976. The effects of temperature on a nerve-muscle system of the hawaiian ghost crab *Ocypode ceratophthalma* (Pallas). *J. Comp. Physiol.* (110): 51-64.
- [GAGEN Y SHARPE, 1987] GAGEN C.J. y W.E. SHARPE, 1987. Net sodium loss and mortality of three salmonid species exposed to a stream acidified by atmospheric deposition. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (39): 7-14.
- [GONZALEZ *et al*, 1990] GONZALEZ, R.J., R.S. GRIPPO y W.A. DUNSON, 1990. The disruption of sodium balance in brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), by manganese and iron. *J. Fish Biol.* (37): 765-774.
- [GRIPPO Y DUNSON, 1991] GRIPPO, R.S. y W.A. DUNSON, 1991. Use of whole body sodium loss from the fathead minnow (*Pimephales promelas*) as an indicator of acid and metal toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 289-296.
- [HAVAS, 1985] HAVAS, M., 1985. Aluminium bioaccumulation and toxicity to *Daphnia magna* in soft water at low pH. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42: 1741-1748.
- [HEINZ, 1988] HEINZ K.H.M., 1988. *Manual técnico para el cultivo y engorda del langostino malayo*. SEPESCA, FONDEPESCA, México D.F. 128 pp.

- [HUGHES, 1976] HUGHES, G.M., 1976. Polluted fish respiratory. In: A.P.M. Lockwood (Ed.) *Effects of pollutants on aquatic organisms*. Cambridge University Press. Cambridge.
- [HUTCHESON *et al*, 1985] HUTCHESON, M., D.C. MILLER y A.Q. WHITE, 1985. Respiratory and behavioral responses of the grass shrimp *Palaemonetes pugio* to cadmium and reduce dissolved oxygen. *Mar. Biol.* 88: 59-66.
- [JUAREZ Y SANCHEZ, 1989] JUAREZ, L.M. y J. SANCHEZ, 1989. Toxicity of the organophosphorous insecticide Metamidophos (O,S-Dimetil phosphorami dothioate) to larvae of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) and the blue shrimp *Penaeus stylirostris* Stimpson. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43: 302-309.
- [KETCHUM, 1972] KETCHUM, B.H. (ed). 1972. *The water's edge: critical problems of the coastal zone*. MIT Press, Massachusetts, 393 pp.
- [KNEESE Y BOWER, 1971] KNEESE, A.V. y B.T. BOWER, 1971. *Managing water quality: economics, technology, institutions*. John Hopkins Press, Londres, 328 pp.
- [KUMARUGURU *et al*, 1980] KUMARUGURU, K.A., D. SELVI y V.K. VENUGOPALAN, 1980. Copper toxicity to an Estuarine Clam (*Meretrix casta*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 853-857
- [LARSON *et al*, 1976] LARSON Å, B.E. BENGSTON y O. SVANBERG, 1976. Some hematological and biochemical effects of cadmium on fish. In: Lockwood A.P.M. (Ed.) *Effects of pollutants on aquatic organisms*. Cambridge University Press, Londres. 35-45.

- [MCDONALD, 1983] McDONALD, D.G., 1983. The effects of H⁺ on the gills of freshwater fish. *Can. J. Zool.* 61: 691-703.
- [MCDONALD *et al*, 1989] MCDONALD, D.G., J.P. READER y T.R.K. DALZIEL, 1989. The combined effects of pH and trace metals on fish ionoregulation. In: Morris, R., E.W. Taylor, D.J.A. Brown y J.A. Brown (Eds.) *Acid toxicity and aquatic animals*. Cambridge University Press. 221-242.
- [MCKEE Y WOLF, 1971] MCKEE, J.E. y H.W. WOLF, 1971. *Water quality criteria*. Pub. Calif. St. Wat. Res. Control Bd 3-A. 548 pp.
- [MIETTINEN, 1974] MIETTINEN, J.K., 1974. The accumulation and excretion of heavy metals in organisms. In: McIntyre A.D. y C.F. Mills (Eds.) *Ecological toxicology research*. Plenum Press. New York. 215-229.
- [MORAÏTOU-APOSTOLOPOULOU *et al*1982] MORAÏTOU-APOSTOLOPOULOU, M., G. VERRIOPOULOS y I. ROGDAKIS, 1982. Evaluation of the stress exerted by a polluted environment to a marine organism by comparative toxicity tests. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 28: 416-423.
- [MÜLLER, 1980] MÜLLER, H.G., 1980. Acute toxicity of potassium dichromate to *Daphnia magna* as a function of the water quality. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25: 113-117.
- [NEW Y SINGHOLKA, 1982] NEW, M.B. y S. SINGHOLKA, 1982. *Freshwater prawn farming. A manual for the culture of Macrobrachium rosenbergii*. FAO, Fish. Tech. Pap. 225. 116pp.
- [PACKER Y DUNSON, 1970] PACKER, R.K. y W.A. DUNSON, 1970. Effects of low environmental pH on blood pH and sodium balance of brook trout. *J. Exp. Zool.* 174: 65-72.

- [PALADINO Y SPOTILA, 1978] PALADINO, F.V. y J.R. SPOTILA, 1978. The effect of arsenic on the thermal tolerance of newly hatched muskellunge fry (*Esox masquinongy*). *J. Therm. Biol.* 3: 223-227.
- [PETERNAC Y LEGOVIE, 1986] PETERNAC, B. y T. LEGOVIE, 1986. Uptake distribution and loss of chromium in the crab *Xantho hydrophilus*. *Mar. Biol.* 91: 467-471.
- [POULTON *et al*, 1989] POULTON, B.C., T.L. BEITINGER y K.W. STEWART, 1989. The effect of hexavalent chromium on the critical thermal maximum and body burden of *Clioperla clio* (Plecoptera: Perlodidae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18: 594-600.
- [RAMIREZ *et al*, 1989] RAMIREZ, P., G. BARRERA y C. ROSAS, 1989. Effects of chromium and cadmium upon respiration and survival of *Callinectes similis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43: 850-857.
- [SANCHEZ *et al*, 1991] SANCHEZ, A., C. ROSAS, E. ESCOBAR y L.A. SOTO, 1991. Skeleton weight-free oxygen consumption related to adaptations to environment and habitats of six crustaceans species. *Comp. Biochem. Physiol.* 100A: 69-73.
- [SEDUE, 1989] SEDUE, 1989. Criterios ecológicos de calidad del agua. *Diario Oficial de la Federación*. 2 de diciembre de 1989.
- [SICK Y MILKIN, 1983] SICK, L.V. y M.R. MILKIN, 1983. Dietary and nutrient requirements for culture of the asian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. In: McVey J.P. (Ed.) *Handbook of Mariculture*. Vol 1. Crustacean aquaculture. CRC Press Inc., Florida. 381-389.

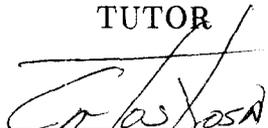
- [THURBERG *et al*, 1973] THURBERG, F.P., M.A. DAWSON y R.S. COLLIER., 1973. Effects of Copper and Cadmium on Osmoregulation and oxygen consumption in two species of estuarine crabs. *Mar. Biol.* 23: 171-175.
- [TORREBLANCA *et al*, 1989] TORREBLANCA, A., J. DEL RAMO y J. DIAZ-MAYANS, 1989. Gill ATPase activity in *Procambarus clarkii* as an indicator of heavy metal pollution. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 829-834.
- [TORREBLANCA *et al*, 1987] TORREBLANCA, A., J. DIAZ-MAYANS, J. DEL RAMO y A. NUÑEZ, 1987. Oxygen uptake and gill morphological alterations in *Procambarus clarkii* (Girard) after sublethal exposure to lead. *Comp. Biochem. Physiol.* 86C: 219-224.
- [UMA DEVI Y PRABHAKARA RAO, 1989] UMA DEVI, V y PRABHAKARA RAO, 1989. Heavy metal toxicity of fiddler crabs *Uca annulipes* Latreille and *Uca triangularis* (Milne Edwards): respiration on exposure to copper, mercury, cadmium, and zinc. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43: 165-172.
- [VANEGAS *et al*, 1988] VANEGAS, C., G. PEREZ, E. MERINO, F. DIAZ Y C. ROSAS., 1988. Efecto de las fluctuaciones de la salinidad sobre el consumo de oxígeno de *Callinectes similis* (Williams). *Revista de Investigaciones Marinas de la Universidad de la Habana, Cuba.* 9(3):67-77.
- [VANGENECHGTEN Y VANDERBORGHT, 1980] VANGENECHTEN, J.H.D. y O.LJ. VANDERBORGHT, 1980. Effect of acid pH on sodium and chloride balance in an inhabitant of acid freshwaters: the waterbug *Corixa punctata* (Illig.) (Insecta, Hemiptera). In: Drablos D. y A. Tollan (Eds.) *Proc. Int. Conf. Ecological impact of acid precipitation.* Noruega. 342-343.

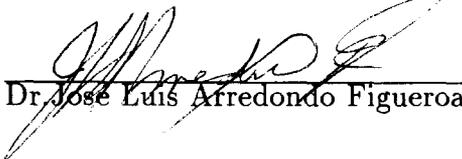
- [VERRIOPOULOUS *et al*, 1986] VERRIOPOULOUS, B., M. MORAÏTOU-APOSTOLOPOULOU y A. XATZISPIROU, 1986. Evaluation of metabolic responses of *Artemia salina* to oil and oil dispersant as a potencial indicador of toxicant stress. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 444-451.
- [WALDICHUCK, 1974] WALDICHUK, M., 1974. Some biological concerns in heavy metal pollution. In: Vernberg J.F. y W.B. Vernberg (Eds.) *Pollution and physiology of marine organisms*. Academic Press, N. Y. 492 pp.
- [WANG Y STICKLE, 1988] WANG, S.Y. y W.B. STICKLE, 1988. Biochemical composition of the blue crab *Callinectes sapidus* exposed to the water-soluble fraction of crude oil. *Mar. Biol.* 98: 23-30.
- [WATENPAUGH Y BEITINGER, 1985] WATENPAUGH, D.E. y T.L. BEITINGER, 1985. Se exposure and temperature tolerance of fathead minnows, *Pimephales promelas*. *J. Therm. Biol.* 10: 83-86.
- [WATENPAUGH *et al*, 1985] WATENPAUGH, D.E., T.L. BEITINGER y D.W. HUEY, 1985. Temperature tolerance of nitrite-exposed chanel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.* 114: 274-278.
- [WEBB, 1974] WEBB, M., 1974. Metallothionein and the Toxicity of Cadmium. In: McIntyre A.D. y C.F. Mills (Eds.) *Ecological toxicology research*. Plenum Press. New York. 177-186
- [WITTERS *et al*, 1984] WITTERS, H., J.H.D. VANGENECHTEN, S. VAN PUYMBROECK y O.LJL. VANDERBORGHT, 1984. Interference of aluminium and pH on the Na-influx in an aquatic insect *Corixa punctata* (Illig.). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 32: 575-579.

- [ZAR. 1974] ZAR, J.H., 1974. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud aprobó esta tesis el día 26 de junio de 1992.

TUTOR


Dr. Carlos Rosas Vázquez


Dr. José Luis Arredondo Figueroa


M. en C. Guillermina Alcaraz Zubeldia