

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA DE POSGRADO

**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO
AMBIENTE**



TESIS

**PREDICCIÓN ECOTOXICOLÓGICA POR METALES MEDIANTE EL
COSTO AMBIENTAL SOSTENIBLE, BIOMARCADORES Y MODELO
COMPUTACIONAL GECOTOXIC EN EL ECOSISTEMA SAN JUAN,
SANTIAGO DE CUBA – CUBA**

PRESENTADA POR:

GEORGE ARGOTA PÉREZ

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

PUNO, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO
AMBIENTE

TESIS

PREDICCIÓN ECOTOXICOLÓGICA POR METALES MEDIANTE EL
COSTO AMBIENTAL SOSTENIBLE, BIOMARCADORES Y MODELO
COMPUTACIONAL GECOTOXIC EN EL ECOSISTEMA SAN JUAN,
SANTIAGO DE CUBA – CUBA

PRESENTADA POR:

GEORGE ARGOTA PÉREZ

PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:

DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO:

PRESIDENTE

Dr. WALTER ALEJANDRO ZAMALLOA CUBA

PRIMER MIEMBRO

Ph.D SABINO ATENCIO LIMACHI

SEGUNDO MIEMBRO

Ph.D BERNARDO ROQUE NUANCA

ASESOR DE TESIS

Dr. EDMUNDO GERARDO MORENO TERRAZAS

ÁREA: Ciencia, tecnología y medio ambiente.

TEMA: Ecotoxicología de metales mediante biomarcadores.

LÍNEA: Evaluación tecnológica y del medio ambiente.

DEDICATORIA

A Dios, por conceder que cada día me levante con fuerzas para seguir pensando en el compromiso de contribuir modestamente a la formación profesional.

A mi esposa Nadiezhda Alexandra Coasaca Sotomayor, así como mis dos tesoros y preciosas hijas, Melina de Salomé y Anilem de Alexandra, por representar ellas mi bandera, himno y escudo para la consagración del bien personal y social.

A mis padres, Humberto y Zoila Mirtha, quienes me han enseñado con humildad desde mi nacimiento que solo se llega a una meta en la vida con decoro.

A mis hermanos, Geomanis y Yadira, por ser motores impulsores para vencer mis angustias y fracasos.

A mis ancestros, familia y amigos, los cuales son luz de compañía incondicional.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano en Puno por seleccionar en cada módulo del Programa de Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, excelentes profesionales.
- Al personal administrativo y asistente del Programa de Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente quienes brindaron toda la amabilidad y complacencia.
- A todos los colegas de la promoción, quienes supieron afrontar con responsabilidad el reto de finalizar, un objetivo común en colectividad y altruismo.
- A mi asesor, Dr. Edmundo Gerardo Moreno Terrazas por su familiaridad, además, a los miembros jurados por su responsabilidad profesional, significación de fe y creencia muy grata en mi persona, al Dr. Walter A. Zamalloa Cuba, PhD. Sabino Atencio Limachi y y PhD. Bernardo Roque Huanca, sinceramente gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I**REVISIÓN DE LITERATURA**

1.1. Contexto y marco teórico	3
1.1.1. Costo ambiental de la contaminación	3
1.1.2. Eficiencia tecnológica en las plantas de tratamientos ambientales: necesidad social	7
1.1.3. Análisis e interpretación ambiental evolutiva	8
1.1.3.1. Impacto tangible de las contradicciones para el desarrollo cognoscitivo	11
1.1.3.2. Interpretación evolutiva desde las matrices abióticas hasta los biomonitores	12
1.1.3.3. Criterios para la selección de organismos biomonitores	14
1.1.3.4. Predicción de riesgo ambiental en ecotoxicología acuática	32
1.2. Antecedentes	35

CAPÍTULO II**PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

2.1.	Problema científico	39
2.1.1.	Pregunta general de investigación	40
2.1.2.	Preguntas específicas de investigación	40
2.1.3.	Justificación de la investigación	40
2.1.3.1.	Valores potenciales de investigación	40
2.1.3.2.	Viabilidad de la investigación	41
2.1.3.3.	Consecuencia de la investigación	41
2.2.	Objetivos de la investigación	41
2.2.1.	Objetivo general	41
2.2.2.	Objetivos específicos	41

CAPÍTULO III**METODOLOGÍA**

3.1.	Lugar de estudio	42
3.2.	Población	43
3.3.	Muestra	43
3.4.	Métodos	43
3.4.1.	Estimación del costo ambiental sostenible	43
3.4.1.1.	Análisis de parámetros físico-químicos de calidad ambiental	44
3.4.1.2.	Determinación de metales: agua, sedimentos, muestra biológica	44
3.4.2.	Correlación de la bioacumulación de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias, hígado y cerebro con el	46

factor de condición de Fulton, reproducción, patrón trófico y actividad bioquímica en la especie <i>Gambusia punctata</i>	
3.4.2.1. Determinación del factor de condición de Fulton	46
3.4.2.2. Determinación de la reproducción	47
3.4.2.3. Determinación del patrón trófico	47
3.4.2.3. Determinación de la actividad acetilcolinesterasa cerebral	47
3.4.3. Predicción del riesgo ecotoxicológico mediante descriptores del modelo computacional Gecotoxic según parámetros físico-químicos, bioacumulación de metales y biomarcadores en la especie <i>Gambusia punctata</i>	48
3.5. Análisis estadístico de los datos	49

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Investigación	51
4.1.1. Estimación del costo ambiental sostenible ante las concentraciones de dureza total, pH, sólidos totales, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno, Cu, Zn, Pb y Cd en agua y sedimentos	51
4.1.2. Correlación de la bioacumulación de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias, hígado y cerebro con el factor de condición de Fulton, reproducción, patrón trófico y actividad bioquímica en la especie <i>Gambusia punctata</i>	59
4.1.3. Predicción del riesgo ecotoxicológico mediante descriptores del modelo computacional Gecotoxic según parámetros físico-químicos,	69

bioacumulación de metales y biomarcadores en la
especie *Gambusia punctata*

CONCLUSIONES	83
RECOMENDACIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	85
ANEXOS	115

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1. Ventajas y desventajas estratégicas para el monitoreo de contaminantes en diferentes matrices de ambientes acuáticos	17
2. Metales (ppm) por ecosistemas / periodo / años / branquias	23
3. Concentración de acetilcolinesterasa cerebral (U/L) / ecosistemas / periodo / años	24
4. Factor de condición de Fulton / ecosistemas / periodo / años	25
5. Hembras con presencia de cámara incubatriz / ecosistemas / periodo / años	25
6. Prueba múltiple de rangos para la concentración de acetilcolinesterasa cerebral / ecosistema / periodo / año	27
7. Prueba múltiple de rangos para el factor de condición de Fulton / ecosistemas / periodo / años	28
8. Criterio de puntuación / costo ambiental sostenible	44
9. Categorías del costo ambiental sostenible / intervalo	44
10. Condiciones instrumentales	46
11. Fuentes de variación / parámetros físico-químicos / estación / periodo	49
12. Parámetros físico-químicos / periodo y estaciones de muestreo / agua	51
13. Prueba de contraste múltiple / parámetros físico-químicos	53
14. Análisis de componentes principales / parámetros físico-químicos	54
15. Concentración promedio de metales en agua ($mg.L^{-1}$) / periodo de lluvia	57
16. Concentración promedio de metales en sedimentos / periodo de lluvia	57

17.	Costo ambiental sostenible relativo / parámetros físico-químicos / metales en agua-sedimentos ($mg.Kg^{-1}$)	59
18.	Bioacumulación de metales / biomarcadores / sexo / especie <i>G. punctata</i>	59
19.	Factor de condición de Fulton / la bioacumulación de metales ($mg.Kg^{-1}$)	60
20.	Correlación lineal de Pearson / factor de condición de Fulton / bioacumulación de metales ($mg.Kg^{-1}$) / machos	60
21.	Correlación lineal de Pearson / factor de condición de Fulton ante la bioacumulación de metales ($mg.Kg^{-1}$) / hembras	61
22.	Reproducción / bioacumulación de metales ($mg.Kg^{-1}$) / branquias	61
23.	Correlación lineal de Pearson / largo del gonopodio / bioacumulación de metales / número de hembras con cámara incubatriz ante la bioacumulación de metales	62
24.	Correlación lineal de Pearson / número de hembras con cámara incubatriz / bioacumulación de metales	62
25.	Número de individuos / clase taxonómica / sexos	63
26.	Concentración de acetilcolinesterasa cerebral / bioacumulación de metales / branquias	63
27.	Correlación lineal de Pearson / actividad acetilcolinesterasa cerebral / bioacumulación de metales / branquias / machos	64
28.	Correlación lineal de Pearson / actividad acetilcolinesterasa cerebral / bioacumulación de metales / branquias / hembras	64
29.	Progresiones aritméticas secuenciales para optimizar el riesgo de predicción ambiental del modelo computacional Gecotoxic	70
30.	Progresiones aritméticas secuenciales de grupo I	70
31.	Progresiones aritméticas secuenciales de grupo II	71

32.	Progresiones aritméticas secuenciales de grupo III	72
33.	Descripción del efecto ambiental generado por el modelo computacional Gecotoxic	73
34.	Efecto ecotoxicológico generado por el modelo computacional Gecotoxic	74
35.	Magnitud del valor de riesgo	75
36.	Similitud de predicción de riesgo estimado / exposición a metales	77
37.	Resumen estadístico / condiciones de similitud	78
38.	Reajuste de códigos de puntuación (derecha) / seguridad de parámetros físico-químicos	79
39.	Código de la variable contaminante de interés	80
40.	Código de puntuación del efecto ambiental ajustado	80

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1. Observación de efectos y/o impactos en la biota ante un valor menor al LMP	13
2. Ecosistema San Juan (rectángulo) en Santiago de Cuba-Cuba	42
3. Dendograma / periodo de lluvia	54
4. Correspondencia de rangos de riesgos / grupo de intervalos	75
5. Progresión aritmética por intervalos y rangos de riesgo / códigos redesignados	76
6. Matriz de interacción entre probabilidad del daño o la consecuencia y rangos por intervalos de riesgo	76
7. Matriz de ajuste óptimo de predicción para la interacción entre probabilidad de daño o consecuencia y rangos de por intervalos de riesgo	77
8. Ventana principal (superior), ventana de análisis residual (inferior izquierda) y ventana de efecto ambiental (inferior derecha) del modelo computacional Gecotoxic	81
9. Predicción de riesgo ecotoxicológico del modelo computacional Gecotoxic para el ecosistema San Juan	82

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
1. Norma Cubana: NC. 827–2010. Agua Potable – Requisitos Sanitarios	116
2. NC. 93–1986. Fuente de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria	117
3. Selección de muestra biológica	118
4. Resultados de laboratorio	119
5. Guía de Calidad Ambiental Canadiense: CEQG (2001)	121
6. Modelo computacional Gecotoxic se encuentra registrado por el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI) con No. Partida Registral: 01025-2019	122
7. Análisis de la varianza / parámetros físico-químicos / periodo de lluvia	123
8. Magnitud del valor de daño	124

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue predecir la ecotoxicología por metales mediante el costo ambiental sostenible, biomarcadores y el modelo computacional Gecotoxic en el ecosistema San Juan, Santiago de Cuba-Cuba. Durante el periodo de lluvia y estiaje (2018) se seleccionó, cinco estaciones para estimar el costo ambiental sostenible relativo (COASOR) según parámetros físico-químicos (PFQ) seleccionados (dureza total: DT, pH, sólidos totales: ST, oxígeno disuelto: OD y la demanda bioquímica de oxígeno: DBO_{5,20}). Se determinó la concentración de Cu, Zn, Pb, Cd en agua y sedimentos (lluvia). Se utilizó a la *Gambusia punctata* como biomonitor cuantificándose los metales (Ms) en las branquias, hígado y cerebro, además, de medirse el factor de condición de Fulton, reproducción, nivel trófico y la actividad acetilcolinesterasa cerebral. Todas las mediciones se introdujeron en el modelo computacional Gecotoxic para la predicción ecotoxicológica. La DBO_{5,20}, no cumplió con el límite permisible ($\leq 4,0$) cuyos resultados fueron: $29,84 \pm 2,18$, (lluvia) y $39,46 \pm 2,0$ (estiaje). Las concentraciones de los Ms en las aguas superaron los límites máximos permisibles: Cu: $13,55 \pm 1,38$ (1,0) Zn: $23,36 \pm 1,38$ (5,0); Pb: $1,27 \pm 0,042$ (0,5) y Cd: $0,056 \pm 0,002$ (0,05). El valor que estimó el COASOR fue de 0,39 lo cual significó, categoría no sostenible del recurso. No hubo, correlación entre los Ms y biomarcadores seleccionados, aunque existió comportamiento desigual comparado con la especie referencia ambiental. Gecotoxic señaló, riesgo ecotoxicológico de tipo alto (81%) donde la calidad ambiental del ecosistema resultó limitada debido a, la variabilidad de PFQ y las respuestas biológicas no deseadas por exposición a Ms.

Palabras clave: biomarcadores, costo ambiental, ecotoxicología por metales, *Gambusia punctata*, predicción de riesgo

ABSTRACT

The aim of research was to predict ecotoxicology from metals through sustainable environmental cost, biomarkers and the Gecotoxic computational model in the San Juan ecosystem, in Santiago de Cuba-Cuba. During the rain and drought period (2018), five stations were selected to estimate the relative sustainable environmental cost (COASOR) according to selected physical-chemical parameters (PCP) (total hardness: TH, pH, total solids: TS, dissolved oxygen: DO and biochemical oxygen demand: BOD_{5,20}). The concentration of Cu, Zn, Pb, Cd in water and sediments (rain) was measured. The *Gambusia punctata* was used as a biomonitor, quantifying metals (Ms) found in the gills, liver and brain, in addition to measuring the Fulton condition factor, reproduction, trophic level and cerebral acetylcholinesterase activity. All of these measurements were introduced into the Gecotoxic computational model for ecotoxicological prediction. BOD_{5,20} did not comply with the permissible limit ($\leq 4,0$) whose results were: 29,84 \pm 2,18, (rain) and 39,46 \pm 2.0 (drainage). The concentrations of Ms in water exceeded the maximum permissible limits: Cu: 13,55 \pm 1,38 (1,0) Zn: 23,36 \pm 1,38 (5,0); Pb: 1,27 \pm 0,042 (0,5) and Cd: 0,056 \pm 0,002 (0,05). The value estimated by COASOR was 0,39 which meant an unsustainable category of the resource. There was no correlation between Ms and chosen biomarkers, although an uneven behavior was noticed when compared to the environmental reference species. Gecotoxic noted a high-type ecotoxicological risk (81%) where the environmental quality of the ecosystem was limited due to the variability of PCP and unwanted biological responses due to exposure to Ms.

Keywords: *biomarkers, environmental cost, metals ecotoxicology, Gambusia punctata, risk prediction*

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas ambientales a nivel global, es la disponibilidad hídrica donde su visibilidad empezó en la década de 1970 con el aumento demográfico, la celeridad sobre las actividades económicas y las modificaciones en el uso de la tierra, contribuyen agravar la distribución equitativa del agua (Herrera & Hiscock, 2015). Como consecuencia de la escasez del agua, existe un significativo impacto sobre los bajos caudales que afectan los ecosistemas, y por ende; la comunidad acuática (Verdonschot *et al.*, 2015; Datry *et al.*, 2016).

Desafortunadamente, el desarrollo vertiginoso de las industrias genera la contaminación del ambiente (Kaewtubtim *et al.*, 2016) y entre los contaminantes que se descargan de forma directa hacia los ecosistemas acuáticos se encuentran los metales pesados (Peng *et al.*, 2009) pudiendo permanecer disponible en la columna de agua y/o concentrarse en los sedimentos representando una amenaza para la cadena trófica (Yan *et al.*, 2015). Es por ello que, los metales pesados han sido objeto de investigación a nivel mundial (Jorkesh *et al.*, 2014; Bahador *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017a). Sin embargo, la evaluación de riesgos ecológicos ante la exposición a metales pesados, no siempre se basa en metodologías regulatorias que determinen su biodisponibilidad (Merrington *et al.*, 2016) y por el contrario, la protección hacia la biota acuática y luego, la salud humana están sustentadas en evaluaciones empíricas como las pruebas de toxicidad y modelos computacionales aunque generalmente, la limitación práctica hace que no se ajusten con fines regulatorios. La forma más sencilla de realizar una evaluación de riesgo ambiental (ERA) ante la presencia de metales pesados, es el requerimiento sobre estándares de calidad ambiental (Ej.: límites máximos permisibles o deseables) bajo la perspectiva de concentraciones totales (Väänänen *et al.*, 2016). Otra limitación en cualquier estudio detallado en condiciones de control radica en la falta de ajuste relacionada a la variación espacial que pudiera influir de manera sensible sobre las especies locales (Xu *et al.*, 2015).

No obstante, el monitoreo de concentraciones totales o disueltas puede ser insuficiente o excesivamente protector, ya que no tiene en cuenta las condiciones locales y precisamente, la biodisponibilidad aunque se reconoce que, es una primera guía de aproximación para incorporar esta herramienta en la ERA de elementos químicos inorgánicos u orgánicos (OECD, 2016). Asimismo, continua siendo difícil la creación de métodos de ERA globalmente confiables para la biodisponibilidad de metales pesados

debido a, las variaciones o transformaciones de la contaminación que suceden en el tipo de medio receptor (Smith *et al.*, 2015). Dado que, los metales pesados al presentarse como agentes tóxicos se pueden dispersar con relativa facilidad en los ambientes acuáticos, además, de hallarse en concentraciones por debajo de los límites detectables donde pueden estar disponibles para su absorción y acumulación por organismos vivos (Schöne & Krause, 2016), es que se emplea como método de evaluación el biomonitoreo (Cervený *et al.*, 2016).

Las comunidades acuáticas son reconocidas como buenos indicadores en términos de evaluación del impacto antropogénico a diferentes niveles y el biomonitoreo se reconoce como un aspecto pertinente de la gestión y conservación de los ecosistemas acuáticos (Masese *et al.*, 2013). El biomonitoreo contribuye a la evaluación integral del efecto nocivo real de los contaminantes expuestos, pues considera los efectos potenciales y las toxicidades positivas de los contaminantes en el medioambiente, siendo el método significativo porque las respuestas biológicas se pueden correlacionar con las concentraciones químicas que se encuentren por debajo de los límites de detección analítica o incluso después de que la exposición química ocurrió (Zuykov *et al.*, 2013).

En general, el biomonitoreo significa una herramienta final para evaluar y cuantificar los procesos subyacentes entre las interacciones de la biota con las matrices agua-sedimentos y con ello, las transferencias humanas pudiendo determinar la sostenibilidad ambiental ante cualquier regulación sobre los ciclos ecológicos perturbados (Zalewski, 2015).

El proyecto de tesis se enmarcó en el área de investigación correspondiente a la ecotoxicología acuática siendo la predicción de riesgo ambiental la línea de investigación mientras que, el tema de investigación fue el monitoreo ambiental en los ecosistemas acuáticos. El propósito se refirió a la interpretación ecotoxicológica ambiental con sustento sobre uso de biomarcadores en la especie *Gambusia punctata* (Poeciliidae) utilizada como organismo biomonitor y de forma conjunta con, el análisis integrado de parámetros físico-químicos de selección los cuales fueron registrados en el modelo computacional Gecotoxic quien se basó en descriptores de datos con medición real, constituyendo una excelente herramienta en la toma de decisiones ambientales para la ecotoxicología acuática

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LA LITERATURA

1.1. Contexto y marco teórico

1.1.1. Costo ambiental de la contaminación

La disponibilidad de agua dulce en el mundo, es una condición crítica y cada día resulta más compleja debido a, diversos factores como la propia contaminación orgánica e inorgánica, manipulación económica y la fuente de poder que representa para aquellos que la posee (Duarte *et al.*, 2002). La demanda de agua para las diversas actividades y entre ellas la agricultura, industria y el consumo doméstico crea competencias que se reflejarán probablemente en unos 15 años, pues la negligencia en la planificación, baja educación y conciencia irresponsable para el manejo y uso adecuado de este recurso está generando algunas consecuencias negativas destacándose los trastornos edafológicos, engrosamiento de la capa sedimentaria en ríos y lagos, enfermedades gastrointestinales y malformaciones genéticas por la presencia de elementos no deseados. La desmedida ambición que ciertos grupos económicos reflejan para aumentar la explotación, control y administración de recursos como el petróleo, gas natural y la propia agua dulce hace que este último recurso ya sea estratégico en el presente siglo XXI, pues representa un elemento esencial, único e insustituible para la supervivencia humana (Agudelo, 2005; He *et al.*, 2014).

Durante el 3er Informe sobre "Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo" celebrado el 16 de marzo de 2009 en la ciudad de Estambul-Turquía se mostró con múltiples datos que, en el 2030 el 47% de la población mundial vivirá en zonas con

estrés hídrico (OECD, 2008) y donde diversos científicos sostuvieron el argumento que el calentamiento global intensificará, acelerará o aumentará el ciclo hidrológico global (Loaiciga *et al.*, 1996; Trenberth, 1999; Held & Soden, 2000; He *et al.*, 2014). De igual modo, una revisión realizada por Huntington (2006) sobre más de 100 estudios basados en observaciones referidas a los cambios recientes en el ciclo hidrológico mundial evidenció que, durante la segunda mitad del siglo XX aconteció mayor tendencia a sufrir escorrentías, inundaciones y sequías, así como otros fenómenos y variables relacionados con el clima a niveles regionales y mundial (Montenegro *et al.*, 2015). Varios científicos entre ellos Zhang *et al.*, (2007), indicaron que durante el transcurso de este siglo XXI, las sequías han sido más intensas, las cuales están ligadas al aumento de las temperaturas y descenso de las precipitaciones, incidiendo en mayor afectación a la población humana.

Desde hace más de veinte años la FAO (1992), definió la contaminación del agua como *“la introducción por el hombre en el ambiente acuático (mares, ríos y lagos) de elementos abióticos o bióticos que causen efectos dañinos o tóxicos, perjudiquen los recursos vivos, constituyan un peligro para la salud humana, obstaculicen las actividades marítimas (incluida la pesca), menoscaben la calidad del agua”*. Conjuntamente, Wang & Zang (2014), plantean que la contaminación del agua disminuye los valores estéticos y de recreación. Sin embargo, hoy en día la contaminación de las aguas es cada vez más preocupante por su exposición a sustancias y preparados químicos con mayor grado de peligrosidad entre los que se encuentran: biocidas y plaguicidas fitosanitarios, compuestos orgánicos volátiles “COV” (Olivares *et al.*, 2012; Iannacone *et al.*, 2016), sustancias persistentes bioacumulables y tóxicas “PBT”, dioxinas (Kogevinas & Janer, 2000), furanos, bifenilos policlorados “PCB” que son alteradores endocrinos (Olea *et al.*, 2002), así como los metales pesados (Iannacone & Alvariño, 2005; Argota & Iannacone, 2014a; Dixit *et al.*, 2015). Todos estos contaminantes representan reales amenazas para los ecosistemas acuáticos por cuanto, corresponderá ser objeto de medidas de evaluación, reducción y control de su riesgo cumpliéndose la necesidad de ser incorporados a cualquier legislación nacional e internacional y así, proteger no solo desde el punto de vista ambiental sino en la valoración económica de las aguas (Wang & Zang, 2014).

La degradación ambiental sobre la calidad de las aguas condiciona que este recurso natural renovable sea más limitante; pues la persistencia de contaminantes disueltos y/o acumulados, puede indicar en ciertos casos, estado irreversible por su valor de uso y quizás como consecuencia sobre la incorrecta interpretación del "Derecho Ambiental" en ciertas generaciones referido al manejo eficiente de las aguas (He *et al.*, 2014).

Dentro de las grandes incertidumbres para muchas sociedades está conocer, cuál sería el costo ambiental de la contaminación de los recursos hídricos, pues la problemática no es tan simple como pudiera parecer ya que la calidad, además, de ser referida a la variación de los parámetros físico-químicos y microbiológicos, presencia de elementos químicos naturales que superan sus concentraciones o xenobióticos disponibles (Corwin & Bradford, 2008; Argota & Iannacone, 2014a; García & Iannacone, 2014; Guimarães *et al.*, 2012; Wang & Zang, 2014), también se incluye entender, cuánto resultaría la recuperación y accesibilidad de los recursos hídricos una vez que se encuentren impactados por actividades antropogénicas (Shortle, 2013; Dixit *et al.*, 2015).

La gran inquietud científica sobre los diferentes contaminantes no es únicamente que, puedan entrar al ambiente por diversas vías sino, que los criterios específicos de calidad ambiental, no son establecidos para todos los contaminantes identificados de manera que, las consecuencias culminan en incorrectos diseños sobre tratamientos para eliminarlos de las aguas residuales (Swartz *et al.*, 2006; Watanabe *et al.*, 2010; Eggen *et al.*, 2010) y entre éstos se encuentran los metales pesados.

La tabla periódica incluye unos 70 elementos metálicos y de ellos, 59 pueden ser considerados "metales pesados", ya que presentan peso atómico mayor al Fe (55,85 g/mol). Sin embargo, con esta precisión se excluirían metales con pesos atómicos menores al propio Fe y que con frecuencia pueden ser metales contaminantes como el V (50,95), Mn (54,44), Cr (52,01) y otros que realmente no son metales como As, F y P. Por ello, resulta adecuado hablar de "elementos trazas", reconociendo que los contaminantes inorgánicos en su mayoría son "metales pesados". Los elementos trazas por lo general, están presentes en concentraciones relativamente bajas (mg.kg^{-1}) tanto en la corteza de la Tierra, suelos y las plantas. En general, todos los

elementos trazas son tóxicos si se ingieren o inhalan en cantidades suficientemente altas y durante largos períodos de tiempo (Plant *et al.*, 2001).

Entre las principales fuentes antropogénicas para los elementos trazas se encuentran las actividades agrícolas, metalúrgicas, la energía tanto en su producción como transporte, además, de los productos micro-electrónicos y la deposición de residuos (Zhou *et al.*, 2008).

A nivel de ecosistemas acuáticos los metales pesados se transforman, a través de procesos biogeoquímicos en especies con distintas características físico-químicas (Tercier & Taillefert, 2008). La medición sobre los niveles de metales pesados disueltos en las aguas naturales (indicador de matriz ambiental) presenta varios problemas analíticos como las concentraciones bajas o cercanas a los límites de detección de los métodos empleados siendo necesario realizar pre-concentraciones. Asimismo, la medición de concentraciones totales provee una estimación del grado de contaminación que presentan las aguas pero la fracción biodisponible de cada especie metálica resulta con mayor relevancia toxicológica en la bioacumulación (Raibonw, 1995). Los elementos químicos forman parte de distintas moléculas en función de su estado de oxidación y del medio en que se encuentren por cuanto, el análisis de especiación consistirá en una herramienta esencial para la evaluación de riesgo ambiental permitiendo que se realicen diagnósticos y controles efectivos de los elementos trazas, aunque la limitación radica sobre la ausencia de análisis de especiación química en las legislaciones ambientales (Sigg *et al.*, 2006).

La contaminación por metales pesados en realidad, tampoco es un problema reciente derivado de la industrialización, ya que comenzó cuando se inició el procesamiento de minerales (Förstner & Wittman, 1983). Desde entonces, el uso de los metales y sus impactos sobre el medioambiente se han acelerado siendo visible en el siglo XX. El ingreso de los metales hacia los cuerpos de aguas superficiales puede ser natural o antropogénico (Gupta *et al.*, 2013; Kashyap *et al.*, 2016; Sheykhi, 2016). Las fuentes naturales de metales que impactan en el ambiente por lo general, no son significativa en comparación a la generada por las actividades humanas (Varol, & Şen, 2012; Dixit *et al.*, 2015). Las malas prácticas en continuar descargando sin tratamiento alguno desechos y aguas residuales hace que la

concentración de metales en las aguas de los ríos siga en aumento (Martín *et al.*, 2015; Ali *et al.*, 2016, Capangpangan *et al.*, 2016).

1.1.2. Eficiencia tecnológica en las plantas de tratamientos ambientales: necesidad social

El saneamiento de aguas residuales es esencial para el desarrollo sostenible y resulta un requisito fundamental para los ecosistemas y la salud humana (UNESCO, 2015). En este sentido, el número de plantas de tratamiento de aguas residuales (PTARs) que operan en todo el mundo ha aumentado significativamente, aunque la evaluación de su eficiencia desde un punto de vista holístico, aún no ha integrado cuestiones económicas y ambientales para garantizar la sostenibilidad del propio recurso agua a largo plazo (Lu *et al.*, 2017).

En las últimas décadas, el tratamiento de aguas residuales ha recibido cierta atención constituyendo de esta forma, una de las actividades más relevantes para el control, calidad y reconocimiento sobre el proceso implementado (Fuentes *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar del gran impacto ambiental del proceso de tratamiento de las aguas residuales, pocos documentos desconsideran la disminución o erradicación de elementos y/o productos no deseados como primera razón de la sostenibilidad (Santos *et al.*, 2013; Morais *et al.*, 2014; Färe *et al.*, 2014).

Por lo general, las plantas de tratamientos de aguas residuales convencionales están diseñadas para la eliminación de sólidos en suspensión y materia orgánica (Binelli *et al.*, 2014). Como resultado, todo producto de *uso personal, farmacéutico e industrial* (UPFI) salen de las PTARs, a través del efluente y nuevamente, regresan hacia los cuerpos receptores acumulándose en sedimentos y organismos acuáticos (Carmona *et al.*, 2014; Zenker *et al.*, 2014; Arlos *et al.*, 2015).

Se estima que el 50% de los UPFI que llegan a las PTARs se descargan, a través del efluente sin ningún cambio en su actividad tóxica. Muchos investigadores al analizar las concentraciones de UPFI en ríos y lagos sobre los cuales se han descargado efluentes de las plantas de tratamientos, encuentran una realidad no deseada, alta presencia de diversos elementos no tratados (Blair *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015; Zenobio *et al.*, 2015).

Los UPFI contenidos en las aguas residuales se presentan en una mezcla compleja de sustancias (Gomes *et al.*, 2017), cuya toxicidad afecta incluso hasta la comunidad microbiana que, a pesar de significar eslabones tróficos inferiores, juegan un papel productor en el ecosistema acuático (Liu & Wong, 2013). Los UPFI comúnmente encontrados en las aguas residuales urbanas incluyen plastificantes, surfactantes, fármacos, fármacos de abuso, hormonas, compuestos de cuidado personal, medios de contraste y edulcorantes entre otros (Miege *et al.*, 2009; Pal *et al.*, 2014).

Una forma posible de reducir los niveles de UPFI en los cuerpos de agua es, a través de tecnologías de tratamiento terciario; sin embargo, en todos los casos las PTARs no incorporan dicha clasificación tecnológica (Praveen, Ping & Chee, 2016; Zhang *et al.*, 2017b; Wang *et al.*, 2018). Esta situación hace que la presencia de UPFI en el efluente de las PTARs sea significativa en cuanto a, considerar la reutilización del agua. Por lo tanto, sería necesario cuantificar los costos generales de los procesos de tratamiento de aguas residuales (incluyendo mejoras tecnológicas en las PTARs) para seleccionar aquella tecnología que pudiera ser la apropiada en eliminar lo perjudicial.

Investigadores como Tang *et al.*, (2014) y Mailler *et al.*, (2016), han evaluado la eficiencia de la eliminación de UPFI por diferentes procesos indicando que la oxidación avanzada, ozonización y carbón activado permiten su remoción; y con ello, mejorar y aceptar la calidad ambiental del agua.

Picazo *et al.*, (2008) y Molinos *et al.*, (2014, 2015) señalan que, todo tipo de agua que ingresa a las PTARs, no solo presenta variación significativa de acuerdo a su calidad normativa, sino que contienen diferentes elementos pero siempre se tendrá que recordar, el objetivo de cualquier planta de tratamiento ambiental: eliminar lo indeseado y reutilizar nuevamente el agua.

1.1.3. Análisis e interpretación ambiental evolutiva

Los análisis de elementos y compuestos de forma acoplados con los parámetros físico-químicos y microbiológicos a medir, posibilitan evaluar el nivel de riesgo sobre la biodiversidad local y asociada de los ecosistemas en forma superficial, ya que no ofrecen informar, posibles efectos e impactos adversos en algunas poblaciones de modo que, el uso de organismos representativos de los ecosistemas

acuáticos, constituyen excelentes bio-herramientas para las interpretaciones ambientales (Argota & Iannacone, 2014b).

Los paradigmas ambientales estimulan o contribuyen a innumerables avances en todas las esferas de la sociedad. La revolución científico-técnica, llamada de igual manera "Tercera Revolución Industrial, Revolución Tecnológica o Tecnotrónica" es reconocida, a partir de la segunda mitad del siglo XX y su surgimiento puede deberse a dos factores: 1ro), el nivel de madurez cognoscitivo existente (factor predisponente interno); y 2do), la II Guerra Mundial como acontecimiento de escala universal y catalizadora sobre los primeros acontecimientos científico-técnicos entre ellos, el Proyecto Distrito Manhattan que culminó con la fabricación de la bomba atómica, fabricación de la primera computadora, proyecto del radar y otros que fueron considerados realmente factores externos (Hernández, 2009).

La reinscripción armónica de la responsabilidad social humana en tiempo y espacio correspondiente a su entorno debe ser reconocido como una re-interpretación que la ciencia contemporánea debe ofrecer al nuevo prototipo de la sostenibilidad de manera que, resulta necesario no solo la aspiración sino una materialización que transite desde las teorías del desarrollo hacia las teorías de un nuevo modelo de sostenibilidad y equilibrio (Gutiérrez, 2007; Vergara & Ortiz, 2016).

Es muy difícil comprender, cómo los avances de la ciencia se multiplican cada vez más pero sus resultados, siguen siendo no accesibles incluso a muchas sociedades que ven comprometidos sus recursos por altos hábitos de consumo e inadecuada forma de bienestar social excluyendo de forma constante, la capacidad de crear nuevos conocimientos e ideas que sean materializadas en productos y que representen finalmente, el alimento palpable (Lukomski & Mancipe, 2008).

Se planteó como razón histórica la concepción del desarrollo para las sociedades lo que sigue siendo, una realidad ignorada para la mayoría de los países en vía de desarrollo (Castro, 1992) debido a, los avances tecnológicos de la ciencia que no son generalmente aceptados o practicados por todos (Herrera, 2004; Piedra, 2010).

Una de las características de la ciencia moderna que causa intranquilidad, es que la gestión está cada vez más motivada por los intereses económicos, por cuanto se pierde la lógica de la ciencia como necesidad para el bien común en la humanidad. De Siqueira (2002), expresó que: "*El mundo se convierte en un enorme laboratorio*

a disposición de la tecnociencia y la naturaleza humana y extrahumana es investigada y modificada sin respeto alguno por cualquier límite ético”. El carácter de la ciencia debe ser orientado hacia la sostenibilidad social y ello significa una prioridad. Toda práctica científica está concebida a minimizar la incertidumbre implícita en el riesgo de manera que, exige un posible control a mantener relaciones de armonía entre el entorno y sus habitantes.

Mavárez (2002), expresó que la visión clásica de la ciencia, es la búsqueda y descubrimiento de la verdad donde solo puede avanzar y alcanzar su fin, si se mantiene libre de las interferencias de concepciones y prejuicios humanos concentrándose de este modo, como único proceso autónomo cultural con actividades valorativamente neutrales.

Lukomski & Mancipe (2008), indican que la naturaleza de la ciencia está basada en cuatro paradigmas fundamentales: positivismo, realismo, instrumentalismo y relativismo siendo muy complejo en cada uno de ellos su análisis y donde la sociologización sobre la teoría de la ciencia, supone insistir tanto en una sociedad como en determinada clase de sociedad y así, igualmente es expresado en las teorías planteadas por Popper (1962) y Kuhn (1982).

Al analizarse lo abordado por Lakatos (1983) sobre los programas de investigación puede reconocerse que solo la producción del conocimiento científico es materializado por aquellos que practican el ejercicio sobre la búsqueda de la “verdad”, a partir de métodos científicos e intercambios de resultados hallados creando de esta forma, comunidades científicas como la estructura esencial para realizar transformaciones y demostrar el bien social.

La historia y el funcionamiento contemporáneo de las instituciones científicas transparentan claramente su condicionamiento social. Desde la creación en el siglo XVII de la Sociedad Royal de Londres y de la Academia de Ciencias de Paris, las cuales sirvieron como verdaderos modelos tanto a las instituciones actuales, sociedades académicas y organismos gubernamentales dedicados a realizar, organizar, promover y aplicar el trabajo científico, es que la historia revela una línea ascendente de compromiso en las estructuras políticas y económicas de la sociedad con la institucionalidad de la ciencia. Un ejemplo de lo señalado es, cómo pudo institucionalizarse una disciplina científica en Venezuela y México, a partir de

institutos que apoyaron a la formación y desarrollo en las universidades (Pulido & Aguilera, 2004; Kleiche *et al.*, 2013).

1.1.3.1. Impacto tangible de las contradicciones para el desarrollo cognoscitivo

Toda aproximación cognoscitiva, difiere de las aproximaciones del aprendizaje en dos maneras principales y así, Durán & Lara (2013) lo señalan: 1ro), las aproximaciones cognoscitivas se centran en las percepciones actuales más que en el aprendizaje transcurrido; y 2do), ellas enfatizan en la importancia de la percepción o interpretación que el individuo hace de una situación y no, en la realidad objetiva de la situación como puede ser vista por un observador neutral en condiciones neutrales; por ello, la ciencia avanza, a través de nuevos esquemas de innovaciones (Srinivas & Sutz, 2008; Alzugaray *et al.*, 2011; Bergeron *et al.*, 2012).

En la medida en que la ciencia se comporta como entidad corporativa colectiva, la construcción de consensos mediante el debate, polémica y escrutinio de opinión, es que puede comprenderse que la ciencia se convierte y representa un tema de importancia, pues gran parte del capital intangible constituido por inversión en capacitación, instrucción, actividades de investigación-desarrollo y coordinaciones están siendo consagradas para la producción y transmisión del conocimiento (Pensado & Ortiz, 2013).

La situación de los científicos, inventores y tecnólogos modernos en los países menos desarrollados está cambiando, pues muchos de ellos pueden adquirir hasta la última edición de cualquier libro referido a diversas disciplinas, tener acceso a informaciones en internet y facilitarse la asistencia a congresos científicos. No obstante, aún persisten los problemas para acceder y generar el conocimiento científico y tecnológico. No siempre resulta fácil ingresar a las redes internacionales de ciencia y participar incluso en proyectos de colaboración. El acceso a la información más valiosa considerando que ha sido publicada, es cada vez más costoso. En la práctica observable, no todos los gobiernos están dispuestos a realizar esfuerzos necesarios para que la ciencia y la tecnología local se vuelvan capaces de

sostener el crecimiento de estas economías; y así, poder garantizar su contribución a la ciencia mundial (Forero & Jaramillo 2002).

El papel de las universidades debe consolidarse, pues como institución representan la premisa fundamental para el desarrollo social (Arocena, 2014) marcándose una posición geopolítica y estratégica para el conocimiento científico como puede ser América Latina (Brunner, 2014).

1.1.3.2. Interpretación evolutiva desde las matrices abióticas hasta los biomonitores

Como se mencionó, la calidad ambiental de los ecosistemas acuáticos, ha estado referida históricamente a la determinación de los parámetros físico-químicos de calidad del agua (Ramírez *et al.*, 2008). Sin embargo, las fluctuaciones de los parámetros físico-químicos pueden ser tan normales que cualquier tipo de contaminación natural puede traer en consecuencia, incorrectas interpretaciones del comportamiento ambiental o salud de los ecosistemas (Lakshmanan *et al.*, 2009).

En cuanto a la determinación sobre la calidad del agua para determinado ecosistema, siguen existiendo un sin-número de índices que son calculados mediante alguna expresión matemática y un ejemplo, es el Índice de Calidad de Agua (Tyagi *et al.*, 2013). El índice "Water Quality Index" (por sus siglas en inglés: WQI) o ICA fue desarrollado en 1970 por la National Science Foundation de los Estados Unidos (NSF) para comparar la calidad de distintos ríos localizados en lugares distantes de la USA, siendo uno de los índices más difundidos. El nombre del método el cual estuvo basado en el oráculo de Delfos habla de cierta metodología con investigación de tipo multidisciplinar para la realización de pronósticos y predicciones. En este contexto, Brown *et al.*, (1970) indicó que 142 expertos analizaron la pertinencia de 35 variables asociadas a la calidad del agua, calificando a cada una según consideraban si debían ser "incluida", "no incluida" o quizás estar "confusas". Las variables seleccionadas fueron calificadas de 1 a 5, siendo 1 el valor más importante. En relación a los resultados del sondeo que se realizó, estas variables se redistribuyeron entre los expertos volviéndose a elegir los parámetros hasta que finalmente, la lista quedó reducida a nueve de ellos con su propio peso

específico sobre el valor total. Estos parámetros fueron: pH, sólidos disueltos totales, turbidez, nitritos, fosfatos, temperatura, demanda bioquímica de oxígeno, coliformes totales y el oxígeno disuelto.

Por su parte, Tyagi *et al.*, (2013), realizaron una evaluación de cuatro índices de calidad de agua formulados por varias organizaciones internacionales calificando este recurso en cinco categorías que va de excelente hasta muy mala calidad del agua. De mismo modo, Sierra (2011) señaló que en Colombia se ha propuesto el índice ICOCOSU "Índice de calidad del agua para corrientes superficiales" donde estuvieron incluidos varios de los parámetros físico-químicos y biológicos que habían sido sugeridos por los 142 expertos. A pesar de, seleccionarse un amplio número de parámetros y luego compararlos con determinada norma, Argota & Iannacone (2014a) señalaron que, no podrán valorarse los posibles efectos e impactos que generan las contaminaciones sobre las poblaciones biológicas, ni tampoco sus transferencias hacia otras matrices ambientales incluyendo a la propia salud humana debido a su carácter de medición e interpretación momentánea. Por ejemplo, se muestra el valor de un metal ($0,4 \text{ mg.L}^{-1}$) comparado con el límite máximo permisible que expresa determinada norma de regulación ambiental ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$) pero, cómo responder a que se observó efectos y/o impactos en la biota, si el valor obtenido que fue de $0,4 \text{ mg.L}^{-1}$ resultó menor que el recomendado ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$) (Figura 1).

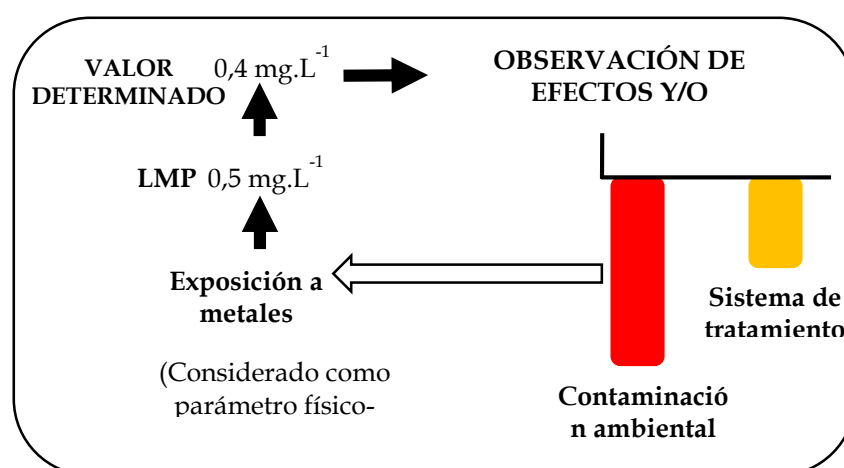


Figura 1. Observación de efectos y/o impactos en la biota ante un valor menor al límite máximo permisible

Fuente: Argota & Iannacone (2014a)

La principal razón para justificar lo hallado radica en las limitaciones de los programas de vigilancia ambiental, ya que no es lo mismo, permitir que desear y por lo general, las normas de regulación ambientales lo que consideran son límites permisibles. Conjuntamente, en múltiples estudios sobre ecosistemas acuáticos antropizados han sido observados cambios perjudiciales en la biota que están asociados a determinados valores por debajo de lo recomendado de modo que, lo único a considerar estaría en modificar los valores referenciales por los reportados siempre que los estudios estén basados en programas de monitoreo histórico y donde Pesson (1979), señaló que los límites máximos deseados, garantizan ausencias de daños en la biota.

Los parámetros físico-químicos y microbiológicos de calidad ambiental presentan como principal desventaja, no predecir cambios observados en los organismos y por tal razón, en los últimos años se ha intensificado la búsqueda de métodos de estudio para detectar los efectos e impactos sobre ecosistemas acuáticos y con ello, diseñar e implementar cualquier medida preventiva. Dentro de la búsqueda metodológica para la prevención ambiental se encontró el reconocimiento de los bioindicadores. Este hallazgo sigue siendo un gran aporte a los estudios de predicción ambiental pero los organismos en esta condición, solo expresan su ausencia o presencia según las fluctuaciones del parámetro o elemento de interés lo cual trae consigo, limitación al utilizarse en un programa ambiental de monitoreo o vigilancia histórica (Aguirre *et al.*, 2012; Cortéz & Mendoza, 2012). Ante tal situación, una nueva condición está siendo utilizada y son los biomonitores quienes independientemente de las fluctuaciones en los parámetros físico-químico y microbiológicos de calidad ambiental, conjuntamente con los contaminantes de interés, siempre muestran su presencia pudiendo evaluarse sistemáticamente, cualquier aspecto biológico de selección (Argota & Iannacone, 2017).

1.1.3.3. Criterios para la selección de organismos biomonitores

La utilización de organismos o comunidades de organismos para registrar y evaluar ciertas características del medioambiente data aproximadamente del

siglo XVI. Con el comienzo de la era industrial se comprobó que los organismos eran capaces no solo de identificar las características naturales de los lugares donde se desarrollan, sino que podían proveer información cualitativa y cuantitativa de los cambios ambientales provocados por el hombre, de ahí que existe amplia información acerca de la utilización de los biomonitores, ya sean plantas o animales para el estudio integral de la contaminación ambiental en todo el planeta (Martín & Coughtrey, 1990). El biomonitoreo en sentido general, es el uso de las propiedades de un organismo o parte de él, para obtener información acerca del contenido de la biosfera (Birungi *et al.*, 2007). La información puede registrarse según cambios en el comportamiento del organismo monitor como la morfología, composición de las especies, predominio de sexo, cantidad de individuos dentro de una población y la concentración de un elemento en el tejido biológico entre otras informaciones (Market *et al.*, 1997) aunque en la actualidad, las estrategias para mejorar la eficiencia y la celeridad en cualquier programa de biomonitoreo está con el uso de enfoque de taxa superior (Zhang *et al.*, 2015; Mazón, 2016) en lo cual consiste en usar datos correspondientes a la biodiversidad de niveles taxonómicos superiores en comparación al nivel genérico y esto indica que es más sencillo, rápido y confiable el programa de monitoreo implementado (Carneiro *et al.*, 2013; Bennett *et al.*, 2014), pues con ello, además, es reducido la resolución numérica sobre índices de calidad ambiental (Landeiro *et al.*, 2012; Heino, 2014; Gomes *et al.*, 2015).

Dos aspectos relevantes del mismo modo, están resultando en los programas de monitoreo ambiental, 1ro) que los organismos seleccionados para la vigilancia ambiental, no presente una alta tasa de depredación sobre el ecosistema, ya que con ello se reduciría la biodiversidad local (Mathers *et al.*, 2016ab); y 2do), la posible relación con especies introducidas (especies invasoras), lo cual al ejercer presiones sobre la biota nativa residente de los hábitats invadidos, pudiera generar cierto sesgo por incorrecta interpretación sobre la propia depredación, competencia o el desplazamiento en la dinámica trófica (Lodge *et al.*, 2012). En este sentido, es recomendado que se comprenda mejor el potencial que pueden desempeñar alguna especie que se haya introducido dentro del ecosistema, ya que influyen en los resultados del

biomonitorio (MacNeil *et al.*, 2013) por lo que las agencias reguladoras a nivel mundial, también lo consideran antes de diagnosticar la degradación ecológica en los ecosistemas (Birk *et al.*, 2012).

Todo ecosistema acuático tiene diferentes matrices ambientales y en cada una de ellas pueden seleccionarse algún organismo biomonitor donde existirán ventajas y desventajas de acuerdo a la estrategia analítica que se pretenda analizar en la propia matriz ambiental (tabla 1).

En la literatura científica internacional, varios trabajos de investigación han indicado disímiles características en cuanto a los criterios que deben cumplir un organismo para ser considerado biomonitor.

Sin embargo, solo las recomendaciones por Rosenberg & Pesh (1993) y Díaz (1995), serán las discutidas por considerarse completas y donde mencionan que los biomonitores deben cumplir con siete criterios para su selección: 1ro) tener una distribución cosmopolita, 2do) ser de fácil identificación taxonómica, 3ro) tener tamaño apropiado, 4to) presentar movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo, 5to) ser tolerantes a la contaminación, 6to) presentar fácil manejo para estudios de laboratorios; y 7mo) debe existir una correlación entre el contaminante de interés y el resto de las matrices ambientales.

Un ejemplo descrito sobre el cumplimiento de los criterios para los biomonitores puede mostrarse con la especie *Gambusia punctata* (Cyprinodontiformes; Poeciliidae).

- Distribución cosmopolita

Investigaciones reportadas por Alayo (1973), quien ha sido considerado uno de los naturalistas que más estudió la ictiofauna en Cuba, mencionó que la *Gambusia punctata* es una de las especies más representativa dentro del género. En la actualidad presenta distribución cosmopolita en todo el archipiélago cubano (Pérez & Schmitter, 2007) aunque Ponce de León & Rodríguez (2010) indicaron que los estudios en los ecosistemas lenticos son escasos.

Tabla 1

Ventajas y desventajas estratégicas para el monitoreo de contaminantes en diferentes matrices de ambientes acuáticos

Estrategia	Ventajas	Desventajas
Agua	<ul style="list-style-type: none"> - Obtención de valores base para calcular factores de bioconcentración en organismos 	<ul style="list-style-type: none"> - Dificultades analíticas: concentraciones cercanas al límite de detección - Variaciones según el régimen de mareas, entradas de agua dulce, temporada del año, <i>etc.</i> - Se obtiene la concentración total del contaminante, no sólo la parte biodisponible - Muestras susceptibles a la contaminación accidental
Sedimento	<ul style="list-style-type: none"> - Obtención de valores base para calcular factores de bioconcentración en organismos - Niveles de concentración fáciles de cuantificar - Muestras poco susceptibles a la contaminación accidental - Ofrecen un grado de integración en el tiempo 	<ul style="list-style-type: none"> - La concentración de los contaminantes está en función de las características del tipo de sedimento (ej.: tamaño de partícula, materia orgánica, condiciones redox, <i>etc.</i>) - Se obtiene la concentración total del contaminante, no sólo la parte biodisponible
Organismo	<ul style="list-style-type: none"> - Niveles de concentración fácilmente cuantificables - Ofrecen un grado de integración en el tiempo - Conocimiento directo de la parte biodisponible 	<ul style="list-style-type: none"> - Ausencia del organismo en el área de monitoreo - Variaciones por procesos fisiológicos, edad, sexo, <i>etc.</i> - Posible impacto en las poblaciones del biomonitor - Dificultades en la identificación de ciertas especies - No se pueden hacer intercomparaciones directas entre diferentes grupos de organismos
Dispositivos artificiales	<ul style="list-style-type: none"> - Se usan en áreas donde un mismo biomonitor no se distribuye - Provee una integración espacial y temporal de las concentraciones del contaminante - Pueden acumular metales en niveles relevantes - La captura y liberación del contaminante parece estar menos afectada por la salinidad y temperatura que algunas especies de mejillones - Las concentraciones no son afectadas por factores propios de los organismos (ej.: edad, sexo, <i>etc.</i>) - Aspecto ecológico (no se sacrifican organismos) 	<ul style="list-style-type: none"> - Es efectivo para la captura de ciertos contaminantes (ej.: Cd, Pb y Zn) - Costo de producción de los dispositivos - No refleja exactamente la fracción biodisponible - Sólo se han usado para el análisis de algunos metales

Fuente: Phillips & Rainbow (1994); Wu *et al.*, (2007)

Una observación interesante en el ecosistema Almendares ubicado en La Habana-Cuba, consiste sobre la coexistencia entre la *Gambusia punctata* con la *Gambusia puncticulata* (Poey, 1854) pero su distribución en el medio acuático es desigual y donde no se ha encontrado una respuesta sobre el porqué del predominio de una especie con relación a la otra, variando tal respuesta en el propio lugar y momentos diferentes para un mismo período del año.

- Fácil identificación taxonómica

Desde el *Reino* hasta nivel o categoría de *Especie*, ha podido clasificarse tres especies del género *Gambusia* en las aguas superficiales del archipiélago de Cuba: *Gambusia punctata* (Lara *et al.*, 2010; FishBase, 2013), *Gambusia puncticulata* y la especie *Gambusia rhizophorae*, aunque esta última solo ha sido descrita en lugares muy específicos.

Un ejemplo descrito sobre el cumplimiento de los criterios para los biomonitores puede mostrarse con la especie *Gambusia punctata* (*Cyprinodontiformes; Poeciliidae*).

- Distribución cosmopolita

Investigaciones reportadas por Alayo (1973), quien ha sido considerado uno de los naturalistas que más estudió la ictiofauna en Cuba, mencionó que la *Gambusia punctata* es una de las especies más representativa dentro del género. En la actualidad presenta distribución cosmopolita en todo el archipiélago cubano (Pérez & Schmitter, 2007) aunque Ponce de León & Rodríguez (2010) indicaron que los estudios en los ecosistemas lenticos son escasos.

Una observación interesante en el ecosistema Almendares ubicado en La Habana-Cuba, consiste sobre la coexistencia entre la *Gambusia punctata* con la *Gambusia puncticulata* (Poey, 1854) pero su distribución en el medio acuático es desigual y donde no se ha encontrado una respuesta sobre el porqué del predominio de una especie con relación a la otra, variando tal respuesta en el propio lugar y momentos diferentes para un mismo período del año.

- Fácil identificación taxonómica

Desde el *Reino* hasta nivel o categoría de *Especie*, ha podido clasificarse tres especies del género *Gambusia* en las aguas superficiales del archipiélago de Cuba: *Gambusia punctata* (Lara *et al.*, 2010; FishBase, 2013), *Gambusia puncticulata* y la especie *Gambusia rhizophorae*, aunque esta última solo ha sido descrita en lugares muy específicos.

La especie *Gambusia punctata* es fácilmente identificable de las otras dos especies, ya que fenotípicamente presenta un "sistema de puntos o banda de manchas" en la región lateral y aleta caudal donde los mismos se distribuyen uniformemente en la región lateral pero son muy escasos en la región de la aleta caudal (Eigenmann, 1903; Ponce de León & Rodríguez 2010).

- Tamaño apropiado

Los machos alcanzan de 3,0 a 3,5 cm de longitud donde tienen el cuerpo alargado y la aleta anal transformada en un larguísimo gonopodio eréctil que constituye el órgano copulador durante la fecundación (Kobelkowsky & Alva, 2000). Las hembras más redondeadas llegan a medir más de 7,0 cm de longitud (dimorfismo sexual muy acusado) presentando gran aleta caudal. Estas longitudes son consideradas de forma significativa para validar por ejemplo; umbrales de bioconcentración por exposición a metales pesados en órganos dianas como el cerebro, hígado y las branquias (Argota *et al.*, 2012a). Estudios realizados han reportado que en condiciones de contaminación ambiental no solo el tamaño natural de los peces puede verse afectado (Argota *et al.*, 2012b) sino hasta la etapa de madurez sexual (Dadda *et al.*, 2005).

El tamaño está ligado ambientalmente con su rol en la cadena alimentaria pudiendo variar, a través de todo su ciclo de vida (Trujillo & Toledo, 2007).

En el proceso de crecimiento, el cambio en la relación del tamaño depredador-presa, va posibilitando que se varíe y/o amplíe la dieta. Tanto los alevines como juveniles se alimentan por lo general, de organismos pequeños (incluso microscópicos: ej. zooplancton), ya que son los únicos que tienen una capacidad natatoria nula o reducida, además, de ser quienes pueden atravesar la cavidad bucal (Falcón *et al.*, 2011).

En esta etapa del ciclo de vida, los alevines de la especie son clasificados como plantófagos hasta ir acentuando su capacidad de cazar presas pasando luego a la etapa adulta donde se alimentan incluso de organismos bentónicos. Otro patrón alimentario está relacionado con su capacidad del canibalismo siendo este comportamiento bien voraz. La tasa alimentaria de las hembras es alta, mientras que en los machos resulta baja, quizás a su función reproductiva, aunque no existen diferencias en sus dietas (Fong & Garcés, 1997).

- Movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo

Gambusia punctata, presenta una forma percoidea de su cuerpo, lo cual le garantiza una excelente rapidez para alcanzar a las presas y pronta huida ante el acercamiento de un depredador. Sin embargo, no existe un patrón migratorio, pues por lo general, en su nicho ecológico existen vegetaciones y piedras que les garantiza alimentación y refugio. El desplazamiento es bento-pelágico con predominio en la superficie del agua para capturar constantemente, pequeños insectos flotantes (Pyke, 2005).

Estudios realizados en condiciones de laboratorio, muestran que su ciclo de vida es relativamente largo llegando a sobrevivir por más de 32 meses siendo relevante este criterio en ecotoxicología ambiental, ya que una de las principales ventajas está sobre monitorear la relación de biomarcadores con parámetros fisico-químicos y microbiológicos de calidad y elementos tóxicos que pudieran estar en forma biodisponible. Conjuntamente, en condiciones naturales el número de individuos capturados en cada estación seleccionada para el muestreo siempre resulta significativo; y ello obedece principalmente, a la tasa de reproducción que es bien alta en las hembras (producción en línea o superfetación), cuyo estado embrionario oscila entre 45 y 60 días aproximadamente. El estado juvenil puede estar entre las 4 a 5 semanas y alrededor de unas 6 semanas, los machos comienzan a diferenciarse por el desarrollo del gonopodio, evidenciando clara madurez sexual debido al comportamiento acosador para realizar la cópula en más de una oportunidad (Argota *et al.*, 2013a). En este periodo los machos pueden medir alrededor de 1,8cm de longitud donde se diferencian con relación a las hembras por su

menor peso corporal y transcurridas dos semanas, es notable el crecimiento en las hembras.

- Tolerante a la contaminación

Los peces de la familia *Poeciliidae* presentan 600 especies aproximadamente y donde han sido introducidos en varias regiones del mundo por su utilidad al control biológico (biorreguladores) y así, eliminar larvas de mosquitos que constituyen un peligro para los cuerpos de aguas naturales y artificiales (fundamentalmente del género *Anopheles* y *Aedes*) debido a que, transmiten enfermedades al ser humano como el dengue, malaria o paludismo (Iannacone & Alvarino; 1997; Vargas & Vargas, 2003) y últimamente, reportes de fiebre por chikungunya (Restrepo, 2014; Martínez & Torrado, 2015).

Al soportar amplio margen de temperatura, salinidad y fluctuaciones de parámetros fisico-químicos (Pérez & Schmitter, 2007), es que puede ser considerada la especie, tolerante a la contaminación siendo este criterio, la base en diferentes estudios para analizar la salud ambiental de los ecosistemas acuáticos (Argota, 2013ab, 2014b).

- Fácil manejo para estudios de laboratorios

Gambusia punctata es una especie que se estresa durante el muestreo y traslado a estantes y/o peceras. Su sensibilidad es tal, que puede hasta morir un alto porcentaje del número total de organismos capturados. Sin embargo, si se tiene en cuenta condiciones óptimas de captura y depósito en reservorios para su traslado hacia las condiciones controladas de laboratorio, rápidamente se adaptan y su porcentaje de viabilidad en ambos sexos es elevado, siendo observado en diversos estudios ecotoxicológicos para evaluar niveles de proteínas (enzimas) y metales (Argota *et al.*, 2012c; Argota & González, 2013b).

- Correlación entre contaminante de interés y resto de las matrices ambientales

Representa uno de los criterios más difíciles de evaluar, ya que se necesita un equipo multidisciplinario que analice en forma simultánea, diferentes

matrices abióticas (agua, sedimentos) y bióticas (moluscos: ej.-*Tarebia granífera*, Lamarck, 1822, plantas: ej.: *Eichhornia crassipes* y peces) dentro del mismo ecosistema. El trabajo de proyecto tesis doctoral realizado por Lima (2005) en el ecosistema Almendares, permitió que este indicador fuera realizado. Aunque se señaló siete criterios como condición para ser organismo biomonitor, no significan que sean los únicos e invariables, pues Argota & Iannacone (2017) sugirieron un 8vo, el cual denominaron: *predicción cuantitativa de riesgo histórico entre ecosistemas impactados y de referencia ambiental mediante uso permanente de biomarcadores*.

Para comprender este criterio, reproduzcamos lo reportado donde inicialmente se mencionó que, no solo es importante el uso de biomonitores como herramientas predictivas, pues según Eissa *et al.*, (2003), Papis *et al.*, (2011) y Werner & Hitzfeld (2012), las nuevas tendencias en los estudios ambientales de ecotoxicología como rama encargada de evaluar y regular los efectos producidos por los contaminantes sobre las poblaciones en el tiempo, está relacionado con el uso de biomarcadores donde a nivel de ecosistema acuático, Zhou *et al.*, (2008), Sisunno & Oliveira (2013), refieren que los peces son excelentes organismos de utilización como biomonitores (Heidary *et al.*, 2012; Al-Ghais, 2013; Çiftçi *et al.*, 2015).

Para el reporte del 8vo criterio se utilizaron dos tipos de biomarcadores: exposición y efecto. Como biomarcador de exposición se realizó la determinación de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias (órgano diana) mientras que, la actividad acetilcolinesterasa cerebral, presencia de cámara incubatriz y el factor de condición de Fulton fueron utilizados como biomarcador de efecto. A partir de la tabla 2, puede irse analizando el fundamento de este criterio.

Tabla 2

Metales (ppm) por ecosistemas / periodo / años / branquias

Ecosistema	Metales	2012		2013		2014		2015		2016	
		LI	E	LI	E	LI	E	LI	E	LI	E
San Juan	Cu	40,2	42,17	41,34	42,17	43,61	44,26	42,43	42,48	40,12	42,48
	Zn	47,6	47,81	52,13	47,81	47,72	48,35	49,22	49,11	48,29	49,11
	Pb	0,02	0,022	0,021	0,022	0,021	0,021	0,022	0,021	0,022	0,021
	Cd	15,6	16,1	16,23	16,18	16,19	17,48	17,73	17,36	16,21	16,88
Almendares	Cu	49,1	51,3	52,4	53,5	51,7	52,6	53,8	53,1	54,2	50,8
	Zn	46,6	48,7	49,9	51,8	50,4	51,1	52,2	51,2	51,7	53,3
	Pb	0,022	0,030	0,021	0,030	0,021	0,022	0,021	0,016	0,021	0,022
	Cd	16,71	18,9	19,75	21,6	20,56	21,7	20,3	16,5	22,3	21,71
Filé	Cu	0,311	0,312	0,310	0,313	0,311	0,311	0,312	0,313	0,311	0,312
	Zn	0,441	0,442	0,442	0,441	0,442	0,442	0,443	0,441	0,442	0,442
	Pb	0,015	0,017	0,016	0,015	0,015	0,015	0,016	0,016	0,015	0,015
	Cd	0,010	0,011	0,011	0,011	0,010	0,011	0,011	0,011	0,010	0,010

Leyenda: época de lluvia (LI) y estiaje (E)

La tabla 3 muestra la concentración media de acetilcolinesterasa cerebral en los organismos por cada ecosistema, periodo y años.

Tabla 3

Concentración de acetilcolinesterasa cerebral (U/L) / ecosistemas / periodo / años

Ecosistema	2012		2013		2014		2015		2016	
	LI	E	LI	E	LI	E	LI	E	LI	E
San Juan	560,21	562,45	556,34	559,87	568,66	559,87	566,98	571,12	569,37	573,35
Almendares	555,33	558,49	572,36	574,66	553,91	548,42	570,06	577,82	573,25	578,16
Filé	449,76	451,06	452,2	450,19	452,83	451,33	453,66	451,27	450,58	449,31

La tabla 4 muestra el factor de condición de Fulton determinado en los organismos por cada ecosistema, periodo y años.

Tabla 4

Factor de condición de Fulton / ecosistemas / periodo / años

Ecosistema	2012		2013		2014		2015		2016	
	L1	E	L1	E	L1	E	L1	E	L1	E
San Juan	0,22	0,22	0,31	0,27	0,38	0,32	0,44	0,42	0,39	0,37
Almendares	0,35	0,35	0,47	0,44	0,37	0,36	0,43	0,41	0,44	0,43
Filé	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,78	0,88	0,88	0,88	0,88

La tabla 5 muestra el número de hembras con presencia de cámara incubatriz por cada ecosistema, periodo y años.

Tabla 5

Hembras con presencia de cámara incubatriz / ecosistemas / periodo / años

Ecosistema	2012		2013		2014		2015		2016	
	L1	E	L1	E	L1	E	L1	E	L1	E
San Juan	69	57	72	66	61	58	68	65	67	62
Almendares	75	64	70	61	68	59	69	58	77	71
Filé	342	339	355	348	347	341	344	338	352	349

No se consideró en el estudio, realizar comparaciones y tratar mediante discusiones cada uno de los biomarcadores con los valores de referencia ya que indicaría, no solo el posible nivel de contaminación existente sino, cómo influyen las condiciones del medio sobre la etología, pues lo esencial fue mostrar la posibilidad de medir cada biomarcador de manera sistemática.

Sin embargo, resultó de interés referir que algunas comparaciones (perteneciente a cada uno de los ecosistemas), arrojaron significación: $p \leq 0.05$ (concentración media de acetilcolinesterasa cerebral, $F=117158843,40$; presencia de cámara incubatriz, $F=303948,24$). Las tablas 6 y 7 muestran tales diferencias según valor de los biomarcadores entre los ecosistemas.

Las evaluaciones realizadas permitieron analizar el estado ambiental ecosistémico, pues una primera seguridad en la toma de decisiones radicó en el carácter sistemático de medición de lo contrario, resultaría más complejo entender cualquier anomalía de efecto indirecto que se produzca en determinado momento, pues cualquier factor biótico como abiótico en condiciones naturales puede influir no solo sobre los ecosistemas, también sobre las poblaciones que lo integran y estos factores como lo señala Yi & Zhang (2012), no siempre se presentan de forma cíclica.

Orrego *et al.*, (2005) y Öztürk *et al.* (2009), plantean que cada nivel de respuesta biológica medida, a través de biomarcadores representa una señal integrada de los niveles de contaminación en un área ambiental (ejemplo; los ecosistemas analizados) y de esta forma, funciona como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural está siendo expuesta.

Tabla 6

Prueba múltiple de rangos para la concentración media de acetilcolinesterasa cerebral / ecosistemas / periodo / años

E - / año / P	Casos	Media	Grupos Homogéneos
F 2016 E	12	449,31	X
F 2012 LI	12	449,76	X
F 2013 E	12	450,19	X
F 2016 LI	12	450,58	X
F 2012 E	12	451,06	X
F 2015 E	12	451,27	X
F 2014 E	12	451,33	X
F 2013 LI	12	452,20	X
F 2014 LI	12	452,83	X
F 2015 LI	12	453,66	X
A 2014 E	12	548,42	X
A 2014 LI	12	553,91	X
A 2012 LI	12	555,33	X
SJ 2013 LI	12	556,34	X
A 2012 E	12	558,49	X
SJ 2014 E	12	559,87	X
SJ 2013 E	12	559,87	X
SJ 2012 LI	12	560,21	X
SJ 2012 E	12	562,45	X
SJ 2015 LI	12	566,98	X
SJ 2014 LI	12	568,66	X
SJ 2016 LI	12	569,37	X
A 2015 LI	12	570,06	X
SJ 2015 E	12	571,12	X
A 2013 LI	12	572,36	X
A 2016 LI	12	573,25	X
SJ 2016 E	12	573,35	X
A 2013 E	12	574,66	X
A 2015 E	12	577,82	X
A 2016 E	12	578,16	X

Leyenda: F = Filé (Santiago de Cuba) (condición de referencia ambiental). A = Almendares (La Habana) (ecosistema impactado). SJ = San Juan (Santiago de Cuba) (ecosistema impactado)

Tabla 7

Prueba múltiple de rangos para el factor de condición de Fulton / ecosistemas y periodo / años

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
SJ 2012 E	12	0,222	X
SJ 2012 LI	12	0,227	X
SJ 2013 E	12	0,276	X
SJ 2013 LI	12	0,314	X
SJ 2014 E	12	0,329	X
A 2012 E	12	0,351	X
A 2012 LI	12	0,356	X
A 2014 E	12	0,363	X
A 2014 LL	12	0,377	X
SJ 2016 E	12	0,377	X
SJ 2014 LL	12	0,388	X
SJ 2016 LL	12	0,395	X
A 2015 E	12	0,417	X
SJ 2015 E	12	0,427	X
A 2016 E	12	0,431	X
A 2015 LI	12	0,431	X
A 2016 LI	12	0,444	X
SJ 2015 LI	12	0,446	X
A 2013 E	12	0,446	X
A 2013 LI	12	0,476	X
F 2014 E	12	0,780	X
F 2014 LI	12	0,880	X
F 2012 E	12	0,880	X
F 2016 E	12	0,881	X
F 2015 E	12	0,882	XX
F 2015 LI	12	0,882	XX
F 2016 LI	12	0,883	XX
F 2012 LI	12	0,884	XX
F 2013 E	12	0,885	XX
F 2013 LI	12	0,886	X

Asumiendo que, la presencia de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias obedecieron a condiciones de disponibilidad en la matriz agua o fueron re-suspendidos desde la matriz sedimento, indicaría que la calidad ambiental como ecosistema en algún momento, no fue aceptada y permanece invariable, siendo demostrado por los resultados históricos. Si ello es así, puede analizarse las siguientes condiciones:

a) Presencia de calidad ambiental del agua no aceptada, por cuanto existió condiciones de inseguridad medida como vulnerabilidad para que

determinadas propiedades de algunos elementos (ej.: metales pesados) se hayan expresado toxicológicamente

b) Si la predicción de riesgo cuantitativo se expresa como: $Prc = P$ (peligro) + V (vulnerabilidad) donde V , se comunicó como no aceptada, entonces la Prc fue de tipo alto, ya que V , es directamente proporcional a Prc . Esto puede señalarse mediante el análisis por bioacumulación de Cu , Zn , Pb y Cd en las branquias de los peces. Del mismo modo, si Prc es atribuido a la presencia de estos metales en las branquias, es porque hubo condiciones que lo propiciaron, es decir, en algún momento la calidad del ecosistema fue vulnerable

c) Si se asume en términos de magnitud de riesgo (Argota & Iannacone, 2014b) que fue de tipo leve donde existen daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos no sistémicos (bioacumulación solo en branquias), es porque existió una probabilidad de riesgo medio (daños de ocurrencia en determinadas ocasiones) por una consecuencia baja (respuesta biológica poco comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos) o probabilidad de riesgo bajo (daños de ocurrencia raras veces) por una consecuencia media (respuesta biológica comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos). Sin embargo, podría pensarse en una magnitud de riesgo de tipo moderada (daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos que conducen a una o determinadas pérdidas donde comienza a comprometerse la vida de los organismos) y en este sentido, la presencia baja de hembras con cámara incubatriz como respuesta disminuida de la reproducción fue perjudicada, comprometiendo a la población de individuos

Las demostraciones anteriores sugieren que, aplicando los métodos teóricos por modelación o sistemático, es posible predecir cuantitativamente el riesgo en determinado periodo de tiempo, además, presumir tendencias de comportamientos biológicos y esto significa, una de las ventajas en los estudios e investigaciones con medición *in-situ*.

En el estudio, a partir de la medición con biomarcadores y el establecimiento sobre un control ecosistémico en términos de seguridad puede alcanzarse mayores predicciones (Yi & Zhang, 2012). Por su parte, Rawson (1991) y

Páez & Osuna (2011), señalaron que los estudios *in-situ* ofrecen avance, desarrollo y la aplicación de últimas tecnologías como biosensores para supervisar posibles cambios en el medioambiente por contaminantes específicos y esto sigue siendo una ventaja.

Castañe *et al.*, (2013) informa que la utilización de organismos biomonitores en la valoración de efectos funcionales en ecosistemas contaminados, posibilitan la correlación entre determinado elemento con parámetros físico-químicos y ello proporciona, ciertas e incuestionables evidencias del grado de deterioro en cualquier ecosistema por lo que en última instancia, Heidary *et al.*, (2012) indican que se puede identificar, cuáles son los contaminantes responsables de las afectaciones.

Al considerar la presencia de los metales pesados como elementos tóxicos dada su bioacumulación, entonces pueden presentarse diversos efectos desde el nivel celular hasta organismo y población donde se pudo observar mediante las comparaciones entre los ecosistemas San Juan y Almendares con el de referencia (Filé), diferencias estadísticamente significativas, lo cual evidencia que se produjeron efectos no deseados.

Rainbow (1995), mencionó que los niveles de metales disueltos en los ecosistemas acuáticos pueden variar apreciablemente en el tiempo, ya sea por emisiones de las fuentes antropogénicas o las estaciones climáticas, de ahí la necesidad de realizar programas de monitoreo intensos para lograr resultados fidedignos de manera que, en el estudio se siguió tal recomendación, pues al determinarse niveles de bioacumulación en un periodo histórico de cinco años, fue señalado que los metales disueltos al estar disponibles, entonces tuvieron alcance ecotoxicológico (Camacho, 2007; Castañe *et al.*, 2013). Seleccionar para el monitoreo las branquias de los peces resultó necesario, ya que no solo es un órgano blanco, además, de ser diana y al estar vascularizado pueden aparecer daños morfológicos cuando las condiciones del medio presentan variaciones no deseadas. Dentro de éstos daños se encuentran respuestas proliferativas que generan deformación y fusión de las lamelas, necrosis, apoptosis celular y pseudoepitelización (Bernet, 2004).

Los daños mencionados pueden tener algún tipo de implicación sobre el sistema nervioso central y donde determinadas actividades enzimáticas quizás se vean afectadas. Una de estas enzimas y que sirve como biomarcador ante el posible efecto negativo es la acetilcolinesterasa, por tal razón fue medida en el estudio. La acetilcolinesterasa es una enzima crucial para el desarrollo y el funcionamiento del sistema nervioso donde juega un papel importante en la diferenciación hematopoyética, así como en el desarrollo neural. Su función clásica es modular el impulso nervioso, a través de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina en la hendidura sináptica (Assis *et al.*, 2015). Esta enzima puede ser empleada como biomarcador en peces no solo para demostrar la presencia de algunos tóxicos orgánicos (plaguicidas organofosforados y carbámicos), sino para indicar presencia de metales pesados (Carvalho *et al.*, 2013; Santillán *et al.*, 2016). Otros autores manifiestan que aumento o disminución de la AChE puede estar dado en función a la duración de la exposición y del tipo de tejido involucrado en los peces (Balambigai & Aruna, 2011; Richetti *et al.*, 2011; Al-Ghais 2013) donde en el estudio, tal modulación fue consecuencia sobre la permanencia de los agentes químicos.

Por otra parte, el crecimiento de los peces dependerá en gran medida de la intensidad metabólica dentro de la población, siempre que el complejo corriente de energía (en la cadena trófica), factores físicos y las acciones recíprocas con otras poblaciones lo permitan. Las condiciones del medioambiente constituyen una de las razones fundamentales que regulan el crecimiento y cuando éste se encuentra alterado o en desequilibrio, influye de manera directa en el crecimiento y desarrollo (Odum, 1986; Heidary *et al.*, 2012). Una medición del crecimiento y desarrollo, es mediante el factor de condición biológico, pues Egea *et al.*, (2002), señalan que la evolución en este biomarcador, pone de manifiesto la tendencia a recuperarse sus pesos corporales y cuando no se alcanza, entonces indica el índice de adelgazamiento sufrido bajo cualquier situación estresante del medio (Heidary *et al.*, 2012; Yi & Zhang, 2012), pudiendo encontrarse incluso, relaciones negativas entre el factor de condición y los metales.

El desarrollo de biomarcadores ha cobrado un interés creciente para evaluar el riesgo por exposición algún agente potencialmente tóxico, ya que los biomarcadores señalan un cambio en las respuestas biológicas de forma temprana (Orrego *et al.*, 2005; West *et al.*, 2006; Öztürk *et al.*, 2009) y al ser utilizados durante un período no menor a cinco años en un organismo biomonitor que posibilite la comparación de dos o más ecosistemas con relación a otro dispuesto en calidad de referencia ambiental, resulta ser un criterio eficiente para los biomonitores en ecotoxicología acuática.

1.1.3.4. Predicción de riesgo ambiental en ecotoxicología acuática

La modelización ecotoxicológica se refiere al estudio de las interacciones químicas en los tejidos diana de un organismo individual y los efectos del tóxico sobre la esperanza de vida y otros efectos reversibles y/o irreversibles en un organismo y, posteriormente, el ecosistema (Escher & Hermens, 2004). La modelización ecotoxicológica se enfrenta a dos desafíos principales: 1ro) la gran cantidad de especies que pueden entrar en contacto con la sustancia química objetivo; y 2do) la gran cantidad y variedad de productos químicos que pueden afectar a un organismo objetivo (Verhaar *et al.*, 1997). A pesar de la gran cantidad de bibliografías sobre toxicidad para organismos acuáticos que existen tanto en la base de datos ECETOC-Aquatic Toxicity (EAT) y ECOTOXicology (ECOTOX) perteneciente a la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés: EPA) como las registradas en TOXicology data NETwork (TOXNET) por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos, siguen siendo limitadas las informaciones de efectos tóxicos (Chapman & Riddle, 2003) sobre todo por los insuficientes trabajos experimentales realizados en ecotoxicología acuática (Olsen *et al.*, 2011).

Toda predicción en ecotoxicología acuática debe ser precisa sobre las consecuencias del cambio ambiental para las poblaciones naturales y las comunidades donde solo así, puede informarse sobre las estrategias de conservación, gestión y adaptación a seguir (Clark *et al.*, 2001). Sin embargo, los nuevos enfoques sobre la predicción deben ser en forma anticipada, cuyo propósito es, proporcionar información útil sobre el estado futuro de un

sistema (Mouquet *et al.*, 2015; (Petchey *et al.*, 2015) de manera que pudieran garantizarse cualquier servicio del ecosistema. Las relaciones que existen entre los hábitats y su biodiversidad con el bienestar humano son múltiples, además, de complejas (Sandifer *et al.*, 2015) y donde establecer un concepto referido a los tipos de servicios que ofrece el ecosistema, realmente es limitado (Millennium Ecosystem Assessment, 2005), por cuanto no hay una definición única de servicio ecosistémico (Nahlik *et al.*, 2012), aunque existe consenso de que los servicios ecosistémicos proceden de estructuras y procesos biofísicos (Haines & Potschin, 2010).

Debido a que los ecosistemas contrastan en la composición de sus especies, los servicios a ofrecer pueden variar en tiempo y espacio (Science for Environmental Policy, 2015). Por lo general se gestionan a los ecosistemas para una finalidad particular o específica (conservación de la naturaleza, producción de alimentos y fibras de madera entre otros) y dada la ocurrencia de interacciones como proceso ecológico, entonces el diseño, ejecución y control para determinado servicio puede comprometer a otro(s) (Raudsepp *et al.*, 2010), haciendo que la visión de manejo sobre los recursos sea estratégica e integral.

Diversos agentes químicos que ingresan al medioambiente pueden degradar los diferentes componentes; y por ende, comprometer la optimización de un determinado recurso utilizado para una finalidad como servicio ecosistémico (Maltby, 2013). La evaluación de riesgos ecológicos (ERE) debe cuantificar los efectos adversos que los agentes químicos (fundamentalmente) causan y comprometen después, a los múltiples servicios ecosistémicos donde cada uno de los objetivos en la ERE, estará direccionado a la protección en lugar y tiempo, además, con los intereses por recursos disponibles (Hommen *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2017).

Morgan & Henrion (1990), señalaron que las evaluaciones de riesgo proporcionaban un valor simple como estimación conservadora del riesgo, mientras hoy se acepta que en la caracterización del riesgo se requiere proporcionar mayor entendimiento de los métodos de estimación y la incertidumbre involucrada en dicha estimación. En el caso de la evaluación

de riesgo ambiental (ERA), Carpenter (1995) menciona que se sigue las reglas de la teoría de la probabilidad mediante una expresión de todos los posibles valores de cada parámetro analizado. Un importante camino en la formulación de problemas con la ERA, es la puesta funcional de los objetivos de protección genéricos en objetivos de protección específicos que puedan utilizarse para orientar a la ERA en diseños prospectivos o retrospectivos (Munns *et al.*, 2009; Nienstedt *et al.*, 2012; Thomsen *et al.*, 2012).

MPGD (2004) indica que la evaluación de riesgo ecológico, es un proceso que evalúa la probabilidad y consecuencia de un impacto adverso, el cual ocurre como resultado de la exposición a uno o más estresores. Para ello, diversos estudios suelen recurrir a modelos informáticos tradicionales para simular las condiciones de calidad del agua. Diversos modelos tradicionales están representados por el sistema QUAL2E de la USEPA (Agencia de Protección de Medio Ambiente de los Estados Unidos), el cual fue propuesto por Brown & Barnwell (1987).

Autores como Bharti & Katyal, (2011), Chowdhury *et al.*, (2012) y Kankal *et al.*, (2012) indican que las modificaciones sobre el monitoreo de la calidad del agua está con base a una expresión escalar de puntuación y quizás, resultaría valorar los riesgos ecológicos en el ecosistema. Parkhurst (1995) propone que realizar una valoración de los riesgos ecológicos acuáticos, ayuda a establecer los límites de control para cualquier tipo de contaminación y especialmente, proteger la vida acuática. Cualquier valoración del riesgo ecológico debe asegurar el nivel correcto de protección, además, en aquellos lugares que sean adecuados (Nienstedt *et al.*, 2012; Devos *et al.*, 2015).

Los métodos de valoración de riesgo pueden utilizarse para estimar los efectos ecológicos de la contaminación de las aguas superficiales en diferentes condiciones como pueden ser: contaminación por fuentes localizadas, contaminación por fuentes dispersas, sedimentos contaminantes en los cauces de agua, acumulación de residuos peligrosos en masas de agua; y análisis de los criterios existentes para el control de la contaminación donde todas las mediciones que se pretendan evaluar deben considerar un enfoque sobre gestión de los riesgos ecológicos (Crane *et al.*, 2009; Silveira & Oliveira, 2013).

1.2. Antecedentes

Durante un estudio relacionado con hongos acuáticos en relación con los parámetros físicos y químicos de la calidad del agua en el canal de Augustow-Polonia se indicó que, la diversidad y abundancia en el grupo taxonómico de estudio se debió los iones de cloruro y sulfato (VI), además, de la conductividad electrolítica lo cual indica que la biomasa en los ecosistemas acuáticos dependen de las condiciones hidroquímicas y se correlacionan significativamente con parámetros de calidad del agua (Cudowska, Pietryczka & Hauschild, 2015).

Sin embargo, cuando la calidad de las aguas es referida a elementos tóxicos como los metales pesados, la respuesta poblacional en los organismos se disminuye y el riesgo humano es elevado. Una investigación sobre la contaminación por metales pesados en el río Ganges de la India encontró que, el agua y los sedimentos estuvieron expuestos a Cd, Cr, Cu, Co, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn en concentraciones por encima a los valores permisibles. Se mencionó que ambas matrices ambientales estaban expuestas por varios años y donde existe gran preocupación debido al peligro de la bioacumulación y biomagnificación donde se evidenciaron daños en el crecimiento, tamaño, supervivencia y extinción en algunas poblaciones de peces, así como en los delfines del río. Fue sugerido monitorear de forma directa, varias fuentes tributarias de metales, además, de la sugerencia en que se reduzca la carga de efluentes metalúrgicos depositados al ecosistema (Dipak, 2017).

Otro estudio realizado en Bangladesh-Tailandia sobre arsénico y plomo en cereales, vegetales y peces como alimentos fueron calculados tres indicadores para evaluar el riesgo sobre la salud no carcinogénico y carcinogénico: el cociente de peligro objetivo (THQ), índice de riesgo (HI) y riesgo carcinogénico objetivo (TR). Aunque solamente los cereales y vegetales se reconocieron como de alto riesgo carcinogénico para las personas adultas en el área de estudio (Islam *et al.*, 2014), el vínculo o medio probable de acumulación de los metales, quizás fue la fuente de agua. Sin embargo, en el propio Bangladesh, Ahmed *et al.*, (2015) reportó altas concentraciones de arsénico en tres especies de peces que tienen preferencia en el consumo humano: *Labeo rohita*, *Pangasius pangasius* y *Oreochromis mossambicus*, indicándose que las aguas donde habitan estas especies se encuentran altamente contaminadas.

En un estudio realizado por Ponsadailakshmi *et al.*, (2018) sobre evaluación de la idoneidad de la calidad del agua para beber utilizando el índice de calidad del agua potable en el distrito de Nagapattinam, Tamil Nadu en el sur de la India se mencionó que, la condición general de la calidad del agua se explica utilizando múltiples variables de calidad del agua mediante el desarrollo de un índice de calidad del agua como un solo número. En este estudio, los resultados demostraron que el índice de calidad de agua potable (por sus siglas en inglés: DWQI) fue optimista, lo que reflejó la condición real de la calidad del agua. El DWQI geométrico identificó claramente el tipo de deterioro de la calidad del agua que ayuda a iniciar una acción inmediata de control de la contaminación del agua. Una evaluación detallada de los índices confirmó que el sistema geométrico de indexación DWQI mostró el estado real de la calidad del agua potable en el área de estudio con relación al pH, conductividad eléctrica, aniones, cationes y metales como el Cu, Zn, Pb, Fe y Cr.

Otro estudio realizado en la propia India sobre los ríos Narmada y Madhya Pradesh para evaluar la calidad del agua utilizaron del mismo modo, índices de calidad y donde encontraron que los parámetros fisicoquímicos y biológicos se encontraron alterados debido a diversos factores incluyendo las actividades antropogénicas (Gupta *et al.*, 2017).

Sin embargo, en los últimos años ha sido intensificada la búsqueda sobre herramientas que indiquen efectos e impactos ante la presencia de sustancias exógenas tóxicas que provoquen cambios biológicos y para ello, los biomarcadores constituyen valiosos indicadores (West *et al.*, 2006; Borbón & González, 2012). Conjuntamente, no solo bastan los biomarcadores, ya que la trascendencia para su utilización está en evaluar históricamente determinado ecosistema. Durante el estudio realizado por Argota *et al.*, (2013c) sobre la evaluación ecotoxicológica histórica del ecosistema San Juan se encontró, presencia de metales pesados en las branquias, hígado y cerebro. Se concluyó en el estudio que, al transcurrir un año hubo efectos ecotoxicológicos ascendentes, pues Argota y Argota (2012), determinaron exposición bioacumulativa a metales en el propio ecosistema San Juan, utilizando intervalos de clases de edades según el sexo en la misma especie *Gambusia punctata*. Se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) no solo en la bioacumulación durante el crecimiento (longitud total) sino entre los sexos. En este estudio se concluyó que existió riesgo ambiental en las aguas ante los niveles elevados de metales pesados.

Otro estudio sobre similitud entre daños en biomarcadores de efecto y probabilidades de riesgo mediante el modelo computacional Gecotox[®] (Argota & Iannacone, 2014b) reportaron que, la acumulación de metales en tejidos de la especie *Gambusia punctata* ocasionó, coeficiente de condición biológico bajo y reproducción disminuida por cuanto, la carga contaminante generada al ecosistema San Juan fue perjudicial

CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El agua, es un recurso necesario en cualquier parte del mundo (Elgallal *et al.*, 2016); y actualmente como matriz ambiental se encuentra en desequilibrio dentro de los ecosistemas acuáticos, ya que las plantas de tratamientos convencionales, no están diseñadas para la remoción de los contaminantes emergentes (Pal *et al.*, 2014) y donde se conoce sus efectos endocrinos sobre la salud humana (Rodríguez *et al.*, 2017), así como, los procedimientos tecnológicos implementados en las plantas de tratamiento por lo general, tampoco eliminan la toxicidad de los metales pesados: MP (Lee & Dhar, 2012; Dixit *et al.*, 2015), lo cual hace que los efluentes sean vertidos con elevada peligrosidad, resultando que su seguridad por valor de uso posterior sea poco eficiente.

Particularmente, la disminuida biodegradabilidad de los MP (Qadir & Malik, 2011; Raval, Shah & Shah, 2016) hace que puedan bioacumularse en organismos inferiores y luego, biomagnificarse (Molina *et al.*, 2012) causando riesgos irreparables en la salud humana (Han *et al.*, 2016). Para predecir cualquier riesgo por exposición a MP en los ecosistemas acuáticos se han utilizado algunos organismos naturales como los peces, ya que estuvieron entre los primeros en ser empleados por protocolos de evaluación ecotoxicológica (Heidary *et al.*, 2011; Hamza, 2014; Çiftçi *et al.*, 2015), unido a su condición de organismos centinelas para cualquier estudio ambiental (Argota *et al.*, 2013; AbdAllah, 2017).

Cada nivel o diversos cambios biológicos que expresan los peces son señales de posible alteración antropogénica y de esta forma, auxilia como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural puede estar expuesta, pues todo ente

biológico tiene la capacidad potencial de ofrecer respuesta ante cualquier estímulo que se presenta en el medio pero cualquiera de la(s) respuesta(s) puede variar en forma correlacionada, si el organismo es considerado bioindicador o biomonitor.

Jebali *et al.*, (2013) y Cassanego *et al.*, (2015), destacan que la condición como biomonitor, es más reflexiva para "explicar" la calidad ambiental de los ecosistemas debido a que, poseen mejores ventajas interpretativas. De igual modo, no solo resultará significativo el uso de biomonitores como herramientas predictivas, pues las nuevas tendencias en ecotoxicología acuática está relacionada con, uso de biomarcadores como expresión de síntesis sobre determinada información cualitativa y/o cuantitativa en el tiempo indicando finalmente, posibles efectos e impactos que generan los contaminantes (Lock & Bonventre, 2008; Argota & Iannacone, 2017).

Por otra parte, la predicción del riesgo ecotoxicológico por exposición a MP, ha sido medida mediante modelos informatizados (Chapman & Riddle, 2003; Patlewicz & Fitzpatrick, 2016), uso de índices (López *et al.*, 2016) y por bioensayos (Pereyra *et al.*, 2012; Fahd *et al.*, 2014; Sadeghi & Hedayati, 2014). Sin embargo, estas mediciones de forma independientes, quizás limiten algunas interpretaciones en la calidad ambiental económica y sostenible de los recursos acuáticos.

La medición económica y sostenible en la calidad ambiental, ha sido abordada desde diferentes perspectivas, externalidades, contingencias, derecho de propiedad, eficiencia económica y desde la razón sobre la pérdida del bienestar (Butler *et al.*, 2005). Algunos enfoques intentan, además, establecer conexiones teóricas entre los sistemas ecológicos y económicos (Volk *et al.*, 2007; Jiajun *et al.*, 2014) pero estas conexiones resultan muy complejas; posiblemente por la inexistencia valorativa en muchas legislaciones internacionales con razón a lo económico (David *et al.*, 2004; Pérez *et al.*, 2011).

Por todo lo anteriormente mencionado, en este proyecto de tesis de investigación se planteó lo siguiente:

2.1 Problema científico

¿Cómo puede predecirse la ecotoxicología por metales en el ecosistema San Juan de Santiago de Cuba, Cuba?

2.1.1. Pregunta general de investigación

¿Qué indicador de costo ambiental, parámetros biológicos y modelo computacional podrían predecir la ecotoxicología por metales en el ecosistema San Juan de Santiago de Cuba, Cuba?

2.1.2. Preguntas específicas de investigación

1. ¿Cuáles parámetros interpretativos de calidad podrían estimar el costo ambiental sostenible por metales en el ecosistema San Juan?
2. ¿Qué herramientas biológicas podrían predecir la toxicidad por metales en el ecosistema San Juan?
3. ¿Cuál modelo computacional podría integrar la funcionalidad ecotoxicológica por metales en el ecosistema San Juan?

2.1.3. Justificación de la investigación

El proyecto tesis de investigación presentó, un enfoque cuantitativo según el estado actual del conocimiento científico conociendo lo siguiente:

2.1.3.1. Valores potenciales de la investigación

Conveniencia: se conoció el costo ambiental sostenible relativo según las variaciones limnológicas de parámetros físico-químicos y biodisponibilidad de Cu, Zn, Pb y Cd en las matrices abióticas aguas y los sedimentos del ecosistema San Juan en Santiago de Cuba-Cuba

Relevancia social: se indicó, cuáles fueron los daños generados por la variabilidad físico-química y exposición ecotoxicológica a metales en las aguas y sedimentos refiriendo luego, el valor de uso como matriz receptora del ecosistema San Juan de Santiago de Cuba-Cuba

Implicaciones metodológicas: se utilizó la especie *Gambusia punctata* como organismo biomonitor en ecotoxicología acuática, además, del modelo computacional Gecotoxic como herramientas para las predicciones de riesgo ambiental

2.1.3.2. Viabilidad de la investigación

La investigación presentó como alcance su expresión concreta de realización, ya que se dispuso de recursos materiales, financieros y humanos, permitiéndose de esta forma, ejecutar las acciones declaradas en el plan de diseño, según el tiempo asignado.

2.1.3.3. Consecuencias de la investigación

La investigación presentó todo el juicio de valor ético y bioético, por cuanto no solo estuvo sustentada sobre principios y normas científicas internacionales de protocolo de desarrollo, además, de una plataforma de competencia profesional que posibilitó el análisis ambiental para la correcta predicción ecotoxicológica.

2.2. Objetivos de la investigación

2.2.1. Objetivo general

Predecir la ecotoxicología por metales mediante el costo ambiental sostenible relativo, biomarcadores y modelo computacional Gecotoxic en el ecosistema San Juan, Santiago de Cuba-Cuba

2.2.2. Objetivos específicos

1. Estimar el costo ambiental sostenible ante las concentraciones de dureza total, pH, sólidos totales, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno, Cu, Zn, Pb y Cd en agua y sedimentos
2. Correlacionar la bioacumulación de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias, hígado y cerebro con el factor de condición biológico, reproducción, patrón trófico y actividad bioquímica en la especie *Gambusia punctata*
3. Predecir el riesgo ecotoxicológico mediante descriptores del modelo computacional Gecotoxic según parámetros físico-químicos, bioacumulación de metales y biomarcadores en la especie *Gambusia punctata*

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Lugar de estudio

El estudio se realizó en el ecosistema San Juan, ubicado en la ciudad de Santiago de Cuba-Cuba (figura 2) durante el periodo de lluvia y estiaje (seca o poco lluvioso) del 2018.

Las aguas del ecosistema, es de gran importancia para la ciudad, ya que en la cuenca hidrográfica (del mismo nombre: San Juan), existe un gran número de pozos que son utilizados para el abastecimiento potable a la población humana. El río principal de la cuenca hidrográfica recorre una longitud aproximada de 23,0 Km² donde a su cauce se descargan efluentes que modifican las propiedades físico-químicas de las aguas y contaminan con metales.



Figura 2. Ecosistema San Juan (rectángulo) en Santiago de Cuba-Cuba

Fuente: Mapa de Cuba (Wikipedia, Historia territorial de Cuba). Consultado 05/01/2019.
https://es.wikipedia.org/wiki/Historia_territorial_de_Cuba

Mapa cartográfico. Centro Nacional de Investigaciones Sismológicas-Cuba (2015).

3.2. Población

Se seleccionó mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia cinco estaciones de exposición donde se capturó mediante un jamo profesional, individuos de la especie *Gambusia punctata*.

3.3. Muestra

Se consideró un muestreo probabilístico aleatorio para las aguas y sedimentos, además, de seleccionar solo aquellos individuos (*G. punctata*) que midieron entre 2,1-3,1cm de longitud evaluándose, biomarcadores de exposición y efecto según la disponibilidad a metales.

3.4. Métodos

3.4.1. Estimación del costo ambiental sostenible

Ante la inexistencia de una expresión matemática referida al análisis de parámetros físico-químicos de calidad ambiental de las aguas y que indique su posible costo ambiental sostenible, se utilizó la fórmula reportada por Argota *et al.*, (2016) donde se expresa lo siguiente:

$$\text{RESCO} = \frac{\sum_i^n \text{COA}}{\sum_i^n \text{CONP}}$$

- RESCO = costo ambiental sostenible relativo*
- COA = costo de evaluación (condición sobre cumplimiento de parámetros físico-químicos y metales seleccionados)
- CONP = costo de prevención normativo (número de parámetros físico-químicos y metales medidos)
- i) observación inicial y n) observación final

* está dado por la no disponibilidad de determinar los mismos parámetros físico-químicos u otros elementos de interés en cualquier estudio

Mediante la fórmula señalada puede conocerse la sostenibilidad del recurso agua de acuerdo, al cumplimiento de parámetros (COA) obteniéndose un cociente, según el tipo de categorías (tablas 8 y 9).

Tabla 8

Criterio de puntuación / costo ambiental sostenible relativo

Criterio	Puntuación
cumple el valor establecido por la norma regulatoria utilizada	1
no cumple el valor establecido por la norma regulatoria utilizada	0

Tabla 9

Categorías del costo ambiental sostenible relativo / intervalo

Categoría de sostenibilidad relativa	Intervalo
recurso sostenible relativo	1,0
recurso moderadamente sostenible relativo	0,85 – 0,99
recurso ligeramente sostenible relativo	0,6 – 0,84
recurso poco sostenible relativo	0,41 – 0,59
recurso no sostenible relativo	0,0 – 0,4

3.4.1.1. Análisis de parámetros físico-químicos de calidad ambiental

La dureza total (DT), pH, sólidos totales (ST) y el oxígeno disuelto (OD) se midieron *in-situ*, mientras que, la DBO_{5,20} se realizó por el método del respirómetro de Warburg. El cumplimiento normativo para el pH, DT y los ST fue mediante la Norma Cubana: NC. 827–2010. Agua Potable – Requisitos Sanitarios (Anexo 1) mientras que, el OD y la DBO_{5,20} se evaluaron por la Norma Cubana: NC. 93–1986. Fuente de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria (Anexo 2).

3.4.1.2. Determinación de metales: agua, sedimentos, muestra biológica

Agua: Para la determinación de Cu, Zn, Pb y Cd se muestreó en cada estación un volumen de 5L (ISO, 1980, 1991, 1994) seleccionando finalmente, 1L como muestra de tipo compuesta conservada para su análisis en frascos plásticos previamente endulzado con las aguas del propio ecosistema

Sedimentos: Las muestras correspondieron a la capa superficial (5cm de espesor) tendiendo cuidado de no alterar la interfase agua-sedimento (Gómez *et al.*, 2000). Luego, los sedimentos muestreados en cada estación se depositaron en bolsas de nylon para su traslado hacia el laboratorio. Fueron secados a temperatura ambiente durante 10 días según lo reportado por Nyingi (2002). Con ayuda de un agitador horizontal en tamices ($63\mu\text{m}$) fueron analizadas las arcillas ($<2,0\mu\text{m}$) y limos ($2,0-63,0\mu\text{m}$) por representar las fracciones donde los metales pesados se encuentran en mayor concentración (Rosas, 2001)

Muestras biológicas: Para analizar la bioacumulación de metales se seleccionó, peces adultos que pertenecieron al intervalo de longitud total entre 2,1-3,0cm (anexo 3). Luego en posición ventral y mediante la utilización de una pinza de sujeción dentada se realizó, conización posterior a los orificios nasales correspondiente en la región cefálica hasta visualizar y extraer con ayuda de una pinza de disección lisa el cerebro. Al instante, la especie fue colocada en posición dorsal y mediante la utilización de dos pinzas de disección lisas fueron abiertos los opérculos para extraer los arcos branquiales. En esta misma posición se realizó, corte con una tijera curva para extraer el hígado

Las muestras de agua, sedimentos y muestras biológicas se colocaron en vasos de precipitados (250mL) donde se adicionaron 5mL de mezcla ácida: HClO_4 : H_2SO_4 (7:1) y 15mL de HNO_3 concentrado, realizándose la digestión en plancha de calentamiento a 80°C , hasta la evaporación total de la mezcla de ácidos. Nuevamente se adicionaron 5mL de HNO_3 concentrado en condiciones de calentamiento hasta la aparición de sales húmeda.

Finalmente se trasvasó cuantitativamente a un frasco volumétrico (25mL) con ayuda de una disolución de ácido nítrico 0,7M para disolver las sales y luego, se enrasó con agua desionizada hasta un volumen de 100mL. La cuantificación de los metales se realizó mediante la técnica, espectrometría de absorción atómica por plasma inductivamente acoplado con vista axial (ICP-AES) según condiciones instrumentales descritas (tabla 10) (Argota & Iannacone, 2017).

Las curvas de calibración se prepararon, a partir de reactivos de calidad espectral verificando las características metrológicas del método y usando valores certificados de muestras patrones de referencia. Se inició con una solución patrón de 1000 mg/L⁻¹ y los estándares de calibración se prepararon por dilución con la misma solución de HNO₃ (0,7 M). Los resultados fueron reportados por el Laboratorio de Minerales "Elio Trincado" de la Empresa Geominera Oriente en Santiago de Cuba-Cuba (Anexo 4).

Tabla 10

Condiciones instrumentales

Parámetros	Condiciones
Tipo de nebulizador	Meinhard (concéntrico)
Energía del plasma	1,4 KW
Velocidad de bombeo de la muestra	15,0 r.p.m.
Tiempo de integración	3,0 segundos

Las concentraciones de metales en las aguas se evaluaron mediante la Norma Cubana, la Norma Cubana: NC. 27–1999. Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. Especificaciones mientras que, las concentraciones de metales pesados en los sedimentos se compararon con valores de la Guía de Calidad Ambiental Canadiense: CEQG (2001) (anexo 5).

3.4.2. Correlación de la bioacumulación de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias, hígado y cerebro con el factor de condición de Fulton, reproducción, patrón trófico y actividad bioquímica en la especie *Gambusia punctata*

3.4.2.1. Determinación del factor de condición de Fulton

Para el análisis del desarrollo, los individuos una vez muestreados fueron identificados por sexo, siendo posible a simple vista dada la presencia del gonopodio en machos de acuerdo con los criterios de Reznick (1990) y McPeck (1992).

Todos los ejemplares fueron pesados (balanza analítica: METTLER AE-163; $\pm 0.01\text{g}$) pero en caso de las hembras, el peso total se calculó sin la presencia de la cámara incubatriz atendiendo a la fórmula:

$$P = Pt - Pci$$

- *Donde:* P (peso), Pt (peso total), Pci (peso de la cámara incubatriz)

Para analizar el desarrollo en los peces se utilizó el coeficiente o factor de condición de Fulton (K) (Da Costa & Gerson, 2003; Camara *et al.*, 2011) quien se se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$K = Pt / Lt^3 * 100$$

- *Donde:* Lt (longitud total)

3.4.2.2. Determinación de la reproducción

La reproducción consideró el largo del gonopodio (LG en centímetros) y número de hembras con presencia distinguible de la cámara incubatriz (CI).

3.4.2.3. Determinación del patrón trófico

Las muestras de los individuos una vez muestreados fueron conservados en frasco de cristal con solución formaldehído al 4%. A los tres días se lavaron con agua corriente donde se les extrajo el contenido del tracto digestivo completo.

Mediante la observación al microscopio óptico (JENAMED-2) fueron separadas e identificaron las presas ingeridas hasta la categoría taxonómica más precisa en dependencia del estado de conservación del material biológico donde solamente se enumeró, la cantidad de ejemplares totales por clase taxonómica.

3.4.2.4. Determinación de la actividad acetilcolinesterasa cerebral

Una vez obtenida la muestra del cerebro fue homogenizada en tampón TRIS/HCL 0,1M; 0,1% Triton pH-8 en la proporción de 1ml por 0,5g de tejido, centrifugándose a 1000 r.p.m. durante 12 min (Ellman, Courtney, Andres & Featherstone, 1961). Fue registrada la actividad de la enzima mediante un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Uv/VIS) a 410nm.

La actividad se expresó como $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{mg}$ de tejido, realizándose todos los análisis por triplicado.

3.4.3. Predicción del riesgo ecotoxicológico mediante descriptores del modelo computacional Gecotoxic según parámetros físico-químicos, bioacumulación de metales y biomarcadores en la especie *Gambusia punctata*

El modelo computacional Gecotoxic se encuentra registrado por el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI) con No. Partida Registral: 01025-2019 (anexo 6). Gecotoxic, está estructurado por dos tipos de descriptores: I) análisis residual prospectivo de la carga contaminante antes de tributarse hacia un cuerpo receptor; y II) análisis de efecto ambiental retrospectivo sobre el cuerpo receptor. Para el desarrollo de la investigación, solamente se consideró, el análisis de efecto ambiental retrospectivo el cual presentó cuatro tipos de menús, 1ro) característica de la fuente contaminante, 2do) seguridad de parámetros físico-químicos y microbiológicos, 3ro) toxicidad del efecto ambiental; y 4to) análisis en modelos biológicos de experimentación. Cada uno de los menús refiere diferentes variables, las cuales fueron codificadas arábigamente. Todas las variables son operacionalizadas sobre datos reales, realizándose análisis en forma individual; y luego, el riesgo se analizó por los menús mediante efecto de interacción donde se consideró para la predicción, los fundamentos básicos de la progresión aritmética según la ecuación siguiente:

$$A_n = A_0 + r(n - 1)$$

- *Donde:*

A_n = n -ésimo término

A = valor inicial

r = razón

Finalmente, en la predicción ecotoxicológica, el riesgo puede ser clasificado como bajo, medio o alto (según ecuaciones de intervalos de probabilidad de riesgo) siendo validada la asignación de los códigos arábigos mediante un análisis de similitud

entre las variables del modelo computacional Gecotoxic con biomarcadores en la especie *Gambusia punctata*, pues la misma posibilita reconocer la magnitud del valor de riesgo (Argota & Iannacone, 2014b).

Probabilidad de riesgo

- A. $[X - nX]$: bajo
- B. $[nX + n' - nX + n'']$: medio
- C. $[nX + n''' - nX]$: alto

3.5. Análisis estadístico de los datos

Se utilizó el programa estadístico profesional "Statgraphics Centurion 18" para el tratamiento de los datos. La prueba de normalidad (distribución normal de Gauss) de las mediciones para cada variable fue mediante el test de bondad de ajuste: distribución del estadístico Kolmogorov–Smirnov (contraste de hipótesis: $[D = \max |F_n(x) - F_o(x)|]$ ($F_n(x)$ la función de distribución muestral y $F_o(x)$ la función teórica o correspondiente a la población normal especificada en la hipótesis nula). Se comparó la diferencia de significancia entre las fuentes de variación (tabla 11) según los valores promedios de cada variable en estudio (parámetros físico-químicos: DT, pH, ST, OD y $DBO_{5,20}$; estaciones: 1, 2, 3, 4 y 5; periodo: lluvia y estiaje) mediante el análisis de varianza con réplicas (Montgomery, 2004). Para diferenciar los promedios de grupos, se utilizó la prueba de contraste múltiple de rango mediante el Test de Bonferroni.

Tabla 11

Fuentes de variación / parámetros físico-químicos / estación / periodo

Mes	Periodo	Estación	DT	pH	ST	OD	$DBO_{5,20}$
mayo-octubre	lluvia	1					
		2					
		3					
		4					
		5					
noviembre-abril	estiaje	1					
		2					
		3					
		4					
		5					

Por otra parte, se realizó un análisis de coeficiente lineal de Pearson ($Y = a + b \cdot X$) entre los biomarcadores (factor de condición biológico, reproducción, actividad enzimática acetilcolinesterasa) y los metales pesados (Cu, Zn, Pb, Cd). Los resultados se consideraron significativos a un nivel de confianza del 95% ($p \leq .05$).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Investigación

4.1.1. Estimación del costo ambiental sostenible ante las concentraciones de dureza total, pH, sólidos totales, oxígeno disuelto, demanda bioquímica de oxígeno, Cu, Zn, Pb y Cd en agua y sedimentos

La determinación de parámetros físico-químicos de calidad del agua provee una estimación sobre la biodisponibilidad de los metales pesados por cuanto, se determinó su concentración según el periodo de lluvia y estiaje en cinco estaciones seleccionadas de exposición (Tabla 12).

Los resultados indican que, la dureza total, el pH, los sólidos totales y el oxígeno disuelto estuvieron en el valor o rango establecido por la norma reguladora ambiental utilizada mientras que, la demanda bioquímica de oxígeno para ambos periodos presentó concentraciones no deseadas.

Debido a, la variación en las concentraciones de los parámetros físico-químicos durante el periodo de lluvia (efecto de dilución), solamente se realizó el análisis de varianza para este periodo (anexo 7) donde hubo diferencias estadísticamente significativas ($p \leq .05$) en los valores de los parámetros físico-químicos entre las estaciones y el periodo (DT: $F=843,87$; $p=.00$ / pH: $F=13,67$; $p=.00$ / ST: $F=1879506,97$; $p=.00$ / OD: $F=15,47$; $p=.00$ / $DBO_{5,20}$: $F=11826,83$; $p=.00$).

Tabla 12

Parámetros físico-químicos / periodo y estaciones de muestreo / agua

Periodo	Estación	DT (mg.L ⁻¹)	pH	ST (mg.L ⁻¹)	OD (mg.L ⁻¹)	DBO _{5,20} (mg.L ⁻¹)
Lluvia	1	240±0,42	7,2±0,2	540,10±7,42	4,7±0,2	28,4±2,3
	2	220±0,44	7,4±0,1	556,36±5,31	5,0±0,2	22,1±1,7
	3	242±0,41	6,9±0,1	550,30±6,18	5,1±0,3	33,7±2,6
	4	240±0,42	7,1±0,1	548,66±4,34	5,1±0,3	34,8±1,9
	5	240±0,42	6,9±0,2	544,20±5,21	5,2±0,2	30,2±2,4
Estiaje	1	280±0,36	6,7±0,2	550,30±4,28	4,7±0,2	42,2±2,8
	2	260±0,38	6,9±0,1	567,44±6,17	4,9±0,1	39,3±2,1
	3	260±0,38	7,1±0,2	560,33±5,33	4,6±0,2	35,8±1,2
	4	260±0,38	6,8±0,1	556,24±6,64	4,5±0,2	39,6±1,5
	5	240±0,42	6,9±0,1	554,66±4,55	4,8±0,2	40,4±2,4
Referencia: NC. 827–2010 / NC. 93–1986		≤400	6-9	≤1000	≥4,0	≤4,0

Leyenda: dureza total (DT), pH, sólidos totales (ST), oxígeno disuelto (OD), demanda bioquímica de oxígeno (DBO_{5,20}). El valor de desviación estándar (±) refiere a réplicas de lecturas analíticas sobre la misma muestra (agua)

La tabla 13 muestra, la prueba de comparación múltiple de rango por Bonferroni para discriminar de forma significativa aquellos valores promedios diferentes.

La tabla 14 muestra el análisis de componentes principales para los dos períodos. En el caso del período de lluvia, la dureza total y el pH justificaron, aproximadamente el 95% de la variabilidad dentro del ecosistema mientras que, en el periodo de estiaje los sólidos totales del mismo modo, influyó.

Tabla 13

Prueba de contraste múltiple / parámetros físico-químicos

DT	Media	Grupos Homogéneos	pH	Media	Grupos Homogéneos
Ll 2	220,0	a	Est 1	6,7	a
Ll 1	240,0	b	Est 4	6,8	ab
Ll 4	240,0	b	Ll 3	6,9	b
Ll 5	240,0	b	Ll 5	6,9	b
Est 5	240,0	a	Est 5	6,9	b
Ll 3	242,0	c	Est 2	6,9	b
Est 2	260,0	b	Est 3	7,0	c
Est 4	260,0	b	Ll 4	7,1	c
Est 3	260,0	b	Ll 1	7,2	c
Est 1	280,0	c	Ll 2	7,4	d
ST			OD		
Ll 1	540,1	a	Est 4	4,5	a
Ll 5	544,2	b	Est 3	4,6	ab
Ll 4	548,66	c	Est 1	4,7	bc
Est 1	550,3	d	Est 5	4,8	cd
Ll 3	550,3	d	Ll 1	4,8	cd
Est 5	554,66	e	Est 2	4,9	d
Est 4	556,24	f	Ll 2	4,9	d
Ll 2	556,36	g	Ll 3	5,1	e
Est 3	560,33	h	Ll 4	5,1	e
Est 2	567,44	i	Ll 5	5,2	e
DBO_{5,20}					
Ll 2	22,1	a			
Ll 1	28,4	b			
Ll 5	30,2	c			
Ll 3	33,7	d			
Ll 4	34,8	e			
Est 3	35,8	f			
Est 2	39,3	g			
Est 4	39,6	h			
Est 5	40,4	i			
Est 1	42,2	j			

Letras: significa, diferencias significativas entre las fuentes de variación

- **Rojo:** periodo de lluvia / estación
- **Azul:** periodo de estiaje / estación

Tabla 14

Análisis de componentes principales / parámetros físico-químicos

Periodo de lluvia			
Parámetro	Eigenvalor	Porcentaje de	
		de la varianza	acumulado
DT	3,38241	67,648	67,648
pH	1,20099	24,020	91,668
ST	0,323296	6,466	98,134
OD	0,0933063	1,866	100,000
DBO _{5,20}	2,16466E-16	0,000	100,000
Periodo de estiaje			
Parámetro	Eigenvalor	Porcentaje de	
		de la varianza	acumulado
DT	2,61148	52,230	52,230
pH	1,33813	26,763	78,992
ST	0,808093	16,162	95,154
OD	0,242295	4,846	100,000
DBO _{5,20}	2,05709E-17	0,000	100,000

La figura 3 muestra el dendograma que se aplicó únicamente para el periodo de lluvia, ya que los parámetros físico-químicos al estar bajo la influencia del efecto de dilución, existe baja probabilidad de formar conglomerados.

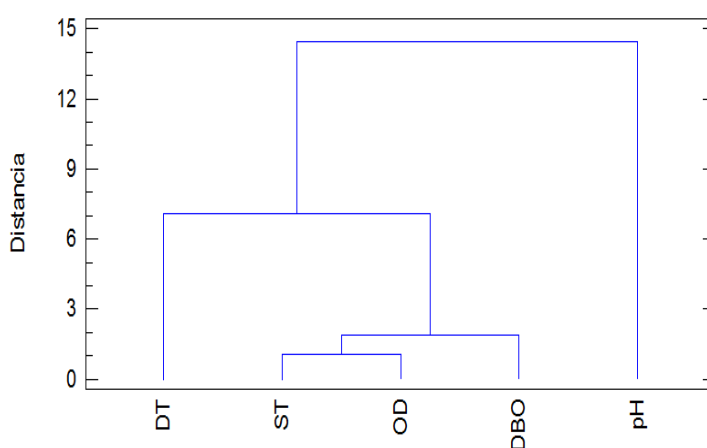


Figura 3. Dendograma / periodo de lluvia

Según los resultados de la figura y considerándose los resultados de la tabla 12 se interpretó que, existió transparencia en el ecosistema y así lo indicó, las concentraciones de los sólidos totales que quizás permitió la difusión del oxígeno disuelto donde existió asociación entre ellos. Sin embargo, este OD parece ser consumido o demandado de forma rápida por organismos de respiración aerobia para degradar la materia orgánica presente, la cual resultó muy alta y donde existió poca distancia entre la asociación del parámetro físico-química demanda bioquímica de oxígeno con el único conglomerado directo que resultó ser los ST y el OD.

Çadraku *et al.*, (2016) durante su estudio sobre variaciones en los parámetros físico-químicos de las aguas subterráneas de la cuenca del Blinaja en Kosovo mencionaron que, la calidad, cantidad y seguridad del agua es uno de los principales problemas donde los resultados hallados mostraron alteración en la temperatura, conductividad, alcalinidad, pH, oxígeno disuelto, turbidez, y en los cationes como: Ca^+ , Mg^+ , K^+ , Na^+ y aniones como el Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- y NO_3^- , respectivamente. Se concluyó que, la variación de la calidad físico-química se debió al estancamiento del agua natural como a la corriente del cuerpo de agua en aquellas localidades donde existe actividad antropogénica.

En esta investigación se esperaba modificaciones en la calidad ambiental de las aguas debido a, descargas directas tributarias de origen antropogénico con poco tratamiento. El oxígeno disuelto fue uno de los parámetros que presentó valores no deseados en los dos períodos y donde Dakoli (2007), mencionó que, a poco nivel de profundidad relacionada con la columna de agua, así como presencia de contaminación, es característica la disminución del oxígeno disuelto. A pesar que, no fue medida la profundidad, el volumen del caudal, no supera un 1m de altura, lo cual corroboraría lo planteado.

Carere *et al.*, (2011) indicaron que en climas cálidos (ej.: Cuba), el aumento de la temperatura está directamente relacionado con una menor solubilidad del oxígeno, además, de cierta aceleración en los procesos metabólicos lo que resulta finalmente, en reducción de los propios niveles de oxígeno y aunque no se consideró la variable temperatura, pudo influir en los resultados hallados.

El ecosistema San Juan en los últimos años su capacidad hídrica ha disminuido debido a, las bajas precipitaciones que sobre el archipiélago cubano se reportan (Brown *et al.*, 2015). Como consecuencia, toda escasez de agua hace más notorio las fluctuaciones físico-químicas (Barceló & Sabater, 2010), exposición de contaminantes (Hamilton *et al.*, 2005) y exacerbación de los riesgos ecológicos (Arenas & Andreu, 2016). Los bajos caudales están relacionados de forma directa con menor capacidad de dilución, lo que resulta en un aumento de la concentración de contaminantes en el agua (Ricart *et al.*, 2010; Osorio *et al.*, 2014).

Cuando la disponibilidad del agua es reducida, puede influir sobre la turbidez y penetración de la luz solar de manera que, existirá menor turbulencia y mayores tasas de deposición de las partículas en suspensión (Kirkby & Froebrich, 2006), aunque en la investigación, las partículas en suspensión como sedimentables fueron bajas y así lo demuestra, las concentraciones de sólidos totales que se hallaron por debajo del límite establecido.

Por otra parte, los niveles bajo de agua pueden resuspender nutrientes con lo cual, la velocidad del caudal al estar disminuida, también reduce niveles de oxígeno por procesos de refrigeración impedidos que se generan (Petrovic *et al.*, 2011), en conjunto con mayores tasas en la deposición de la materia orgánica (Ademollo *et al.*, 2011). En esta investigación se consideró, la materia orgánica biodegradable donde pudo resuspender como depositarse desde y hacia la matriz sedimentaria. En cualquier caso, los valores determinados indicaron que sus concentraciones fueron muy elevadas donde las concentraciones de oxígeno disuelto, no fueron suficientes para degradar dicha materia orgánica.

Las perturbaciones físico-químicas pueden dar forma a la biodisponibilidad y posterior toxicidad xenobióticas para aquellos organismos que están expuestos (Piggott *et al.*, 2015). Uno de los tóxicos son los metales pesados y éstos estuvieron presentes en las matrices ambientales aguas y sedimentos. Se determinó en el periodo de lluvia las concentraciones de metales y donde a excepción del Cu en la matriz sedimentos, todos los elementos superaron el valor establecido por la norma reguladora ambiental, incluyendo al propio Cu para el agua (tablas 15 y 16). No se realizó el análisis de varianza debido al incumplimiento de los valores según el límite máximo permisible.

Tabla 15

Concentración promedio de metales (mg.L⁻¹) en agua / periodo de lluvia

Estación	Cu	Zn	Pb	Cd
1	11,24 ± 1,28	23,12 ± 3,22	0,11 ± 0,06	0,007 ± 0,001
2	16,3 ± 1,11	26,3 ± 2,19	0,14 ± 0,04	0,12 ± 0,002
3	10,38 ± 1,26	17,34 ± 2,31	0,11 ± 0,03	0,006 ± 0,001
4	16,27 ± 2,21	26,61 ± 2,11	0,16 ± 0,05	0,14 ± 0,002
5	13,58 ± 1,05	23,44 ± 2,17	0,11 ± 0,03	0,008 ± 0,002
Referencia *	1,0	5,0	0,05	0,005

* NC. 27–1999. Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado

Tabla 16

Concentración promedio de metales en sedimentos (mg.Kg⁻¹) / periodo de lluvia

Estación	Cu	Zn	Pb	Cd
1	1,39 ± 0,71	4,13 ± 1,81	0,07 ± 0,02	0,004 ± 0,001
2	1,4 ± 0,39	6,2 ± 2,33	0,08 ± 0,02	0,03 ± 0,002
3	1,55 ± 0,25	5,28 ± 1,89	0,07 ± 0,01	0,006 ± 0,001
4	1,72 ± 0,19	7,04 ± 2,17	0,07 ± 0,02	0,08 ± 0,02
5	1,33 ± 0,52	6,59 ± 2,32	0,06 ± 0,02	0,006 ± 0,002
Referencia *	18,7	123,0	35,0	0,7

* Guía de Calidad Ambiental Canadiense: CEQG

Dias *et al.*, (2009), Kumar *et al.*, (2015) y Yan *et al.*, (2015) expresaron que en regiones con intensas actividades antropogénicas, siempre estarán presentes los metales en las aguas y sedimentos lo que representa una amenaza para la vida y desde luego, en el ecosistema San Juan pueden presentarse diversos impactos ambientales debido a, las concentraciones encontradas.

Los efectos nocivos de los metales pesados en los ecosistemas acuáticos los han convertido en un tema principal de la investigación ambiental donde en las últimas décadas, el monitoreo sobre sus concentraciones ha sido objeto de interés por varios científicos (Ali *et al.*, 2013; Ahmed, 2015).

Ghasemi *et al.*, (2017) señalaron que las concentraciones de metales pesados por encima de los valores recomendados, representan degradación ambiental de las aguas sobre todo en aquellos sitios donde son determinados.

Por otra parte, Skalak *et al.*, (2016) señalaron que, la variabilidad hidrogeológica puede contribuir a una redistribución de los sedimentos, así como un ciclo biogeoquímico alterado en la interfase agua-sedimento y donde Li & Cai (2015) indicaron que varios contaminantes, incluyendo los metales pesados pueden quedar retenidos. Entre las preocupaciones ambientales acerca de los ecosistemas acuáticos cuando éstos retienen metales pesados en los sedimentos está la movilidad ambiental como su toxicidad. La retención no necesariamente significa que sea permanente, ya que podrían re-suspender hacia la columna de agua ocasionando efectos a corto y largo plazo sobre la biodiversidad (Ghosh *et al.*, 2011). En este proyecto de tesis, solo el Cu se encontró sobre los valores permisibles en todas las estaciones, lo que pudiera existir algún riesgo posterior a la columna de agua por exposición al Zn, Pb y Cd. La selección de las estaciones de monitoreo, arrojó información espacial sobre la distribución del contenido total de los metales tanto en agua como sedimentos indicándose que el riesgo ambiental, no resultó específico o puntual para determinada zona. Dentro de las preocupaciones ambientales para valorar la calidad del ecosistema San Juan está la estimación referida a la sostenibilidad. Para ello se estimó, el costo ambiental sostenible relativo considerando los parámetros físico-químicos y las concentraciones de metales pesados en agua y sedimentos determinadas según las siguientes expresiones:

$$\text{RESCO} = \frac{\sum_i^n \text{COA}}{\sum_i^n \text{CONP}}$$

RESCO* = PFQ [lluvia: 1 + 1 + 1 + 1 + 0; estiaje: 1 + 1 + 1 + 0 + 0] metales agua - sedimentos [lluvia: 0 + 0 + 0 + 0; estiaje: 1 + 0 + 0 + 0] / 18

RESCO = PFQ [6] metales agua - sedimentos [1] / 18

RESCO = 8 / 18

RESCO = 0,44

* Sumatoria de valores considerando los períodos

Dado el valor 0,44 calculado del costo ambiental sostenible relativo para el ecosistema San Juan la categoría asignada fue como recurso poco sostenible relativo (tabla 17).

Tabla 17

Costo ambiental sostenible relativo / parámetros físico-químicos / metales en agua-sedimentos

Categoría de Sostenibilidad Relativa	Intervalo	RESCO
Recurso poco sostenible relativo	0,0 – 0,4	0,39

El resultado indicó que, las variaciones de parámetros físico-químicos como los metales pesados representan daños ecotoxicológicos y por tanto, considerar un monitoreo sobre biomarcadores en biomonitores significa un enfoque de decisión ambiental durante cualquier programa de biomonitoreo para la contaminación en los ecosistemas acuáticos (Rajeshkumar *et al.*, 2017).

4.1.2. Correlación de la bioacumulación de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias, hígado y cerebro con el factor de condición de Fulton, reproducción, patrón trófico y actividad bioquímica en la especie *Gambusia punctata*

La tabla 18 muestra la bioacumulación de metales pesados en los órganos diana de la especie *Gambusia punctata*, durante el periodo de lluvia donde la estación de exposición 4, fue quien presentó las mayores concentraciones en las aguas.

Tabla 18

Bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹) / biomarcadores / sexo / G. punctata /

Factores influyentes		Variable respuesta			
sexo	órgano	Cu	Zn	Pb	Cd
Machos	Cerebro	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	Hígado	42,29 ± 0,02	79,19 ± 0,02	ND	ND
	Branquias	48,20 ± 0,02	50,66 ± 0,02	0,026	18,51 ± 0,01
Hembras	Cerebro	no detectado	no detectado	no detectado	no detectado
	Hígado	44,57 ± 0,02	80,46 ± 0,02	no detectado	no detectado
	Branquias	49,22 ± 0,02	51,76 ± 0,02	0,035 ± 0,02	19,69 ± 0,02

No se detectó bioacumulación de los metales pesados en el cerebro, tampoco en el hígado para el plomo y cadmio, aunque éste órgano de forma conjunta con las branquias, acumularon Cu y Zn en ambos sexos. La tabla 19 muestra el factor de condición de Fulton (K) ante las concentraciones bioacumuladas de metales pesados en las branquias para ambos sexos pertenecientes a la estación de exposición 4 donde, no se encontró asociación significativa (correlación lineal de Pearson) entre el K y los metales pesados para los sexos, ya que el valor-P \geq .05 (tabla 20 y 21).

Tabla 19

Factor de condición de Fulton / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹)

Sexo	Pt	Lt ³	K
machos	0,027 ± 0,001	2,04 ± 0,043 (8,489)	0,31 ± 0,014
hembras	0,089 ± 0,001	2,47 ± 0,026 (19,039)	0,46 ± 0,009

Tabla 20

Correlación lineal de Pearson / factor de condición de Fulton / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹) / machos

Metal		Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Cu	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	24,41	20,8712	1,16955	0,3071
	Pendiente	-0,5	0,433013	-1,1547	0,3125
Ecuación del modelo		K Machos = 24,41 - 0,5*Cu M			
Zn	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-25,0205	21,9369	-1,14057	0,3177
	Pendiente	0,5	0,433013	1,1547	0,3125
Ecuación del modelo		K M = -25,0205 + 0,5*Zn M			
Pb	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-25,0205	21,9369	-1,14057	0,3177
	Pendiente	0,5	0,433013	1,1547	0,3125
Ecuación del modelo		K M = 0,44 - 5*Pb M			
Cd	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	9,565	8,01507	1,19338	0,2987
	Pendiente	-0,5	0,433013	-1,1547	0,3125
Ecuación del modelo		K M = 9,565 - 0,5*Cd M			

Tabla 21

Correlación lineal de Pearson / factor de condición de Fulton / bioacumulación de metales pesados (mg.Kg⁻¹) / hembras

Metal		Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Cu	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	1,07466	1,55981	0,688968	0,5287
	Pendiente	-0,0124567	0,031611	-0,394061	0,7136
Ecuación del modelo		K H = 1,07466 – 0,0124567*Cu H			
Zn	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-1,29211	1,88159	-0,686714	0,5300
	Pendiente	0,0339348	0,036442	0,93119	0,4045
Ecuación del modelo		K H = -1,29211 + 0,0339348*Zn H			
Pb	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	0,505909	0,041155	12,2926	0,0003
	Pendiente	-1,36364	1,21786	-1,1197	0,3255
Ecuación del modelo		K H = 0,505909 – 1,36364*Pb H			
Cd	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-0,679765	1,90985	-0,355926	0,7399
	Pendiente	0,0503356	0,097127	0,518244	0,6316
Ecuación del modelo		K M = -0,679765 + 0,0503356*Cd H			

La tabla 22 muestra, el largo del gonopodio y número de hembras con presencia de la cámara incubatriz (CI) como indicadores de la reproducción ante la bioacumulación de metales pesados en las branquias para los ejemplares de la estación 4.

Tabla 22

Reproducción / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹) / branquias

Indicador	Medición	Cu	Zn	Pb	Cd
LG (cm)	0,88 ±0,16	48,20 ±0,02	50,66 ±0,02	0,026 ±0,008	18,51 ±0,008
No. hembras (CI)	3(17): 17,65%	49,22 ±0,02	51,76 ±0,02	0,035 ±0,02	19,69 ±0,02

En las tablas 23 y 24 se muestran las correlaciones lineales de Pearson según el largo del gonopodio y número de hembras con presencia de la cámara incubatriz ante la bioacumulación de metales pesados donde, no se evidenció asociación (correlación lineal de Pearson), ya que el valor-P ≥ .05.

Tabla 23

Correlación lineal de Pearson / largo del gonopodio / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹)

Metal		Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Cu	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	0,933333	501,682	0,0018604	0,9986
	Pendiente	0	10,4083	0	1,0000
Ecuación del modelo		largo del gonopodio = 0,933333 – 0,0*Cu M			
Zn	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	0,933333	527,296	0,0017700	0,9987
	Pendiente	0	10,4083	0	1,0000
Ecuación del modelo		FCB H = -1,29211 + 0,0339348*Zn H			
Pb	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	0,933333	2,7075	0,344721	0,7477
	Pendiente	0	104,083	0	1,0000
Ecuación del modelo		largo del gonopodio = 0,933333 + 0,0*Pb M			
Cd	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	0,933333	192,658	0,0048445	0,9964
	Pendiente	0	10,4083	0	1,0000
Ecuación del modelo		largo del gonopodio = 0,933333 – 0,0*Cd M			

Tabla 24

Correlación lineal de Pearson / número de hembras con cámara incubatriz / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹)

Metal		Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Cu	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-168,024	176,324	-0,952929	0,5153
	Pendiente	3,46249	3,56977	0,969948	0,5097
Ecuación del modelo		CI = -168,024 + 3,46249*Cu H			
Zn	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-282,051	534,866	-0,527329	0,6911
	Pendiente	5,52995	10,3763	0,532939	0,6883
Ecuación del modelo		CI = -282,051 + 5,52995*Zn H			
Pb	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	4,98077	8,04433	0,619166	0,6471
	Pendiente	-57,6923	233,161	-0,247436	0,8456
Ecuación del modelo		CI = 4,98077 – 57,6923*Pb H			
Cd	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-132,321	296,886	-0,445697	0,7331
	Pendiente	6,88073	15,0959	0,455803	0,7277
Ecuación del modelo		CI = -132,321 + 6,88073*Cd H			

En la tabla 25 se muestra el número de individuos por clase taxonómica en machos y hembras de la estación 4 donde existió mayor número de presas ingeridas para las hembras.

Tabla 25

Número de individuos / clase taxonómica / sexos

sexo	Dieta ingerida			
	insectos	arácnidos	crustáceos	gasterópodos
machos	24	4	7	5
%	60	10	17,5	12,5
hembras	43	11	13	9
%	56,58	14,47	17,11	11,84

En la tabla 26 se muestra el nivel de proteína total como actividad enzimática ante la bioacumulación de metales en las branquias donde no se observó asociación para los sexos según las variables analizadas.

Tabla 26

Concentración de acetilcolinesterasa cerebral / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹) / branquias

actividad enzimática	sexo	nivel	Metales pesados			
			Cu	Zn	Pb	Cd
AChE-cerebral	macho	331,64 ±3,22	48,20 ±0,02	50,66 ±0,02	0,026 ±0,008	18,51 ±0,008
	hembra	342,10 ±2,54	49,22 ±0,02	51,76 ±0,02	0,035 ±0,02	19,69 ±0,02

Las tablas 27 y 28 muestran las correlaciones lineales de Pearson según la actividad de la enzima acetilcolinesterasa cerebral en machos y hembras ante la bioacumulación de metales pesados (branquias) donde, no se evidenció asociación (correlación lineal de Pearson), ya que el valor-P ≥ .05

Tabla 27

Correlación lineal de Pearson / actividad acetilcolinesterasa cerebral / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹) / branquias / machos

Metal		Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Cu	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-946,17	6470,08	-0,146238	0,9076
	Pendiente	26,5	134,234	0,197417	0,8759
Ecuación del modelo		Ach-M = -946,17 + 26,5*Cu M			
Zn	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	1673,65	6800,43	0,246109	0,8464
	Pendiente	-26,5	134,234	-0,197417	0,8759
Ecuación del modelo		Ach-M = 1673,65 - 26,5*Zn M			
Pb	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	324,24	34,918	9,28575	0,0683
	Pendiente	265,0	1342,34	0,197417	0,8759
Ecuación del modelo		Ach-M = 324,24 + 265*Pb M			
Cd	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	-159,385	2484,67	-0,064147	0,9592
	Pendiente	26,5	134,234	0,197417	0,8759
Ecuación del modelo		Ach-M = -159,385 + 26,5*Cd M			

Tabla 28

Correlación lineal de Pearson / actividad acetilcolinesterasa cerebral / bioacumulación de metales (mg.Kg⁻¹) / branquias / hembras

Metal		Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Cu	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	283,076	96,8017	2,92429	0,2098
	Pendiente	1,19909	1,9598	0,611844	0,6504
Ecuación del modelo		Ach-H = 283,076 + 1,19909*Cu H			
Zn	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	614,408	66,0354	9,30422	0,0682
	Pendiente	-5,2788	1,28108	-4,12059	0,1516
Ecuación del modelo		Ach-H = 614,408 - 5,2788*Zn H			
Pb	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	338,494	0,034475	9818,33	0,0001
	Pendiente	110,962	0,99926	111,044	0,0057
Ecuación del modelo		Ach-H = 338,494 + 110,962*Pb H			
Cd	Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
	Intercepto	225,025	94,691	2,37641	0,2536
	Pendiente	5,9633	4,81478	1,23854	0,4324
Ecuación del modelo		Ach-H = 225,025 + 5,9633*Cd H			

La evaluación ambiental sobre el efecto toxicológico de los contaminantes puede ser estimada mediante ensayos con peces (Bianchi *et al.*, 2015; Steffens *et al.*, 2015), donde cualquier programa de biomonitorio mediante estos organismos, miden el impacto y consecuencia real de la exposición (Baptista *et al.*, 2013; Marcato *et al.*, 2014; Adeogun *et al.*, 2016). En un estudio sobre parámetros de calidad del agua, biomarcadores y bioacumulación de metales en peces nativos capturados en el río Ilha, sur de Brasil, Dalzochio *et al.*, (2017) encontraron que, existió bioacumulación de metales (Cd, Cr y Pb: $0,01 \pm 0,02$ – $0,019 \pm 0,44$; $0,12 \pm 0,05$ – $3,45 \pm 8,78$; $0,09 \pm 0,05$ – $0,34 \pm 0,19$ ppm) significativa en el tejido muscular de la especie *Bryconamericus iheringii*, siendo una gran preocupación, ya que es consumida por la población. Otros metales como el Mn, Al, Ni, y el Zn, no representaron riesgos, ya que su concentraciones correspondieron a variaciones temporales. A pesar que, el órgano estudio en este proyecto tesis fue las branquias, los valores encontrados para el Pb y el Cd fueron superiores al tejido muscular.

Van der Oost *et al.*, (2003) señalaron que, las branquias y el hígado son los sitios principales donde se almacenan los metales para la desintoxicación, a través de las metalotioneínas y aunque el músculo, no es un tejido activo para acumular metales pesados, siempre podrá justificarse su estudio y análisis debido a, que representa una parte comestible para el consumo humano (Costa & Hartz, 2009).

En otro estudio de tipo experimental en condiciones *in vivo* (14-28 días) sobre la bioacumulación de metales en juveniles de *Oncorhynchus mykiss* (trucha arcoíris), a través de la exposición de la dieta a los mejillones azules se encontró que, los mejillones recolectados en los sitios afectados contenían tres veces más concentraciones de Co, Mo, Sn y V comparativamente con los mejillones de un sitio A, menos afectados. Después de 28 días de exposición dietética, las concentraciones de As y Se en músculo, además, de Pb, Se y el Zn en la piel fueron significativamente mayores que, aquellos peces alimentados con dieta regular (McEneff *et al.*, 2017). Estos resultados muestran que una de las principales vías de entrada de los metales es, a través del tracto alimentario (Sauliutė & Svecevičius, 2015) donde en el estudio se evidenció, la rápida bioacumulación cuando la exposición a metales es significativa.

Según lo establecido en el Programa de Monitoreo Ambiental Coordinado (por sus siglas en inglés: OSPAR, 2014), las concentraciones permisibles de Pb y Cd en peces son: $0,13 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (dry weight) mientras que, la Comisión Europea (2006) establece 1,5 para el Pb y 0,25-5,0 al Cd, respectivamente. En el presente proyecto de investigación, las concentraciones de Cd superaron lo recomendado y aunque se reitera que se cuantificó en las branquias, el tejido muscular podría presentar factor de bioacumulación.

Cifuentes *et al.*, (2012) plantean que, el uso de indicadores como la relación longitud-peso y el factor de condición de Fulton (K) posibilitan obtener información sobre el crecimiento, nutrición, reproducción, además, analizar cómo las condiciones ambientales de los ecosistemas acuáticos afectan las poblaciones de peces. Los peces están considerados dentro de aquellos organismos más susceptibles a sustancias tóxicas como los metales presentes en el agua (Jarić *et al.*, 2011).

En este proyecto de investigación, el factor de condición biológico para machos y hembras fueron bajo (M: $0,31 \pm 0,014$; H: $0,46 \pm 0,009$) de manera que, las condiciones ambientales de su medio, no fueron las adecuadas. Durante un estudio realizado por Leyton *et al.*, (2015) sobre estimación del factor de condición de Fulton (K) y la relación longitud-peso en tres especies ícticas (*Oreochromis niloticus*, *Prochilodus magdalenae*, *Pimelodus grosskopfii*) de la cuenca alta del río Cauca en Cali, Colombia se encontró que, la especie *O. niloticus* tuvo un promedio de $2,20 \pm 0,29$ donde se indicó que este alto valor posiblemente se debió a, que es una especie omnívora, tolerante a una baja calidad del agua y rápido crecimiento mientras que *P. grosskopfii* presentó valor de K por debajo de 1, indicando que tuvo dificultades en su crecimiento. Los valores encontrados en este proyecto de investigación comparativamente estuvieron por debajo y aunque no se encontró correlación con la bioacumulación de los metales, las condiciones ambientales fueron limitantes.

Durante un experimento con la gamitana (*Colossoma macropomum*), la cual es un pez amazónico ampliamente cultivado en Sudamérica debido a, la rusticidad, rápido crecimiento en cautiverio, régimen omnívoro y la alta demanda de su carne en el mercado regional se indicó que después de transcurrido 54 días, los alevinos

presentaron un crecimiento de tipo alométrico y el factor de condición indicó una declinación paulatina de la condición de la especie que pudo corresponderse a, uno de los factores como es la escasez de alimento (Felipa *et al.*, 2016) de manera que, el valor hallado en este proyecto de investigación quizás se debió a, la limitación sobre la disponibilidad alimentaria. Ramos (2009) señaló que, el factor de condición es estacionario en adulto y donde en cierto periodo se comporta inversamente proporcional a la alometría del crecimiento. En este estudio, el análisis se realizó sobre individuos adultos y aunque los valores hallados fueron superiores a los encontrados en la misma especie y ecosistema siguen siendo muy bajos al considerarse que, la propia especie en el ecosistema de Referencia Filé, presentó factor de condición biológico estimado de 0,885 (Argota & Tamayo, 2012).

Aunque no existen antecedentes sobre la medición en el largo del gonopodio, el valor encontrado de $0,88 \pm 0,16\text{cm}$ puede estimarse como disminuido, pues este órgano reproductor al ser proporcional a la longitud total y donde los machos de la especie en el ecosistema Filé alcanzan un promedio de $2,85 \pm 0,043$ y el valor encontrado fue de $2,04 \pm 0,043$ (Argota & Tamayo, 2012), entonces puede señalarse que, las condiciones del medio influyeron en la reproducción siendo observado mediante la longitud del gonopodio. Este resultado se corrobora con el bajo porcentaje (17,65%) observado en las hembras que tuvieron presencia de la cámara incubatriz con lo cual se señala posible disminución poblacional. La reproducción, no solo es afectada por la variación de parámetros físico-químicos de calidad de agua (Miller & Rose, 2014) sino por limitación trófica (Argota *et al.*, 2013a). El mayor porcentaje en la dieta para los machos y las hembras correspondió a insectos siendo muy probable que, obedeciera durante el momento flotación ("reposo fisiológico") sobre la columna de agua, pues el resto del grupo taxonómico se consideró bajo. El mayor porcentaje en la dieta fue para las hembras y este resultado se corresponde con la mayor parte del orden *Cyprinodontiformes* y la familia *Poeciliidae* donde por lo general, no existe diferencia en sus dietas pero sí en la cantidad de individuos consumidos (Trujillo & Toledo, 2007).

Solamente se encontró, correlación entre la bioacumulación a metales con la dieta sobre insectos en los machos. Este resultado fue de interés, pues pudiera responder a cierta limitación en el desplazamiento hacia la búsqueda de alimentos en todo el nicho ecológico y únicamente por instinto, preferir la capturar de presas

(incluyendo a los insectos) que se encuentren en la superficie de la columna de agua donde existe, además, elevados niveles de oxígeno disuelto. Si este comportamiento, pudiera justificar de forma similar e indirectamente, el bajo porcentaje de hembras con presencia de la cámara incubatriz.

En ambientes acuáticos las excesivas concentraciones de los metales, afectan a los organismos de diferentes formas pudiendo ocasionar desde la disminución de su metabolismo y crecimiento hasta la muerte celular, ya que esta última puede ocasionarse por asfixia debido a la coagulación de las mucosidades sobre las branquias. A pesar que, no hubo correlación entre los metales bioacumuladas en las branquias y la enzima acetilcolinesterasa, Biol *et al.*, (2013), indicaron que incrementos de la temperatura (aunque no se midió pero es elevada sobre el ecosistema) provocan efectos deletéreos y depresión metabólica en organismos marinos donde Madeira *et al.*, (2013) señalaron que, esta variable provoca cambios notorios a nivel de tejido como afectación en el sistema antioxidante. Luísa *et al.*, (2017) mencionaron que el cerebro puede verse afectado con aumento de la temperatura y donde se inhiben determinadas enzimas (ej.: glutatión-S-transferasa, superóxido transferasa), incluida la acetilcolinesterasa. La exposición a compuestos aromáticos policíclicos (Oropesa *et al.*, 2007), pesticidas (Topal *et al.*, 2017) y metales (José *et al.*, 2017) en las aguas pueden provocar, disminución de la AChE-cerebral en peces pudiendo existir en un periodo de tiempo prolongado.

Finalmente, las respuestas de los biomarcadores sobre la concentración de los metales en cualquier tejido de las especies residentes representa una imagen integrada y ecológicamente relevante de la biodisponibilidad en un sitio específico (Jonge *et al.*, 2015) de modo que, los metales una vez bioacumulados pueden influir en el comportamiento biológico, aunque no se evidenciaron correlaciones significativas con respecto a, el factor de condición de Fulton, reproducción y la alimentación pero no se excluye que pudiera existir cuando la exposición transcurre a mediano y largo plazo, pues Ferrante *et al.*, (2017) en su estudio sobre bioacumulación de metales y biomarcadores del estrés ambiental en la especie *Parablennius sanguinolentus* (Pallas, 1814) muestreada a lo largo de la costa italiana indicaron que, hubo correlación significativa entre la bioacumulación de metales con micronúcleos y anormalidades nucleares, especialmente con metales genotóxicos indiscutibles como el Cd, Cr, Hg y Pb.

En este propio estudio, el análisis genético molecular reveló disminución de la variabilidad genética en las poblaciones más sometidas a presión antrópica siendo un resultado hallado relevante, pues pudiera señalar algún tipo de daño genotóxico existente en la especie *Gambusia punctata*, aunque aún no han sido corroborado.

4.1.3. Predicción del riesgo ecotoxicológico mediante descriptores del modelo computacional Gecotoxic según parámetros físico-químicos, bioacumulación de metales y biomarcadores en la especie *Gambusia punctata*

La necesidad de comprender los impactos generados por la contaminación sobre los ecosistemas acuáticos en término de evaluación de riesgo ambiental (ERA) resulta una razón de necesidad y para ello, determinar la concentración expuesta como obtener datos de toxicidad en algunas especies de interés, además, de la medición final en término de nivel de efectos no observados (NOEL), representa una herramienta de predicción (Fahd *et al.*, 2014). En otros casos se recomiendan aplicar métodos ecotoxicológicos *in-sílicos* para generar datos de toxicidad faltantes (Brinkmann *et al.*, 2014; Patlewicz & Fitzpatrick, 2016).

La modelización ecotoxicológica se refiere al estudio de las interacciones químicas en los tejidos diana de un organismo individual y los efectos del tóxico que pueden suceder sobre la vida u otros efectos reversibles y/o irreversibles en el propio organismo con los posibles daños que finalmente puedan presentarse a nivel de ecosistema (Ashauer *et al.*, 2011).

Aunque se han propuesto para la ERA, diferentes modelos como el empírico (Miller *et al.*, 2000), toxicocinético (Giulio & Hinton, 2008) y toxicodinámico (Ashauer *et al.*, 2013) entre otros, aún faltaría probablemente cómo poder, incorporar variables que evalúen desde la caracterización de las fuentes contaminantes, comportamiento de parámetros de calidad sobre los efluentes antes y después de su ingreso a la matriz receptora, tipo de tratamientos que se utilizan, efectos toxicológicos en modelos biológicos de experimentación condiciones de laboratorio y de campo, así como el comportamiento de los contaminantes en las matrices receptoras.

De igual modo, cómo poder utilizar modelos computacionales de medición de datos reales que permitan predecir el tipo de riesgo con base a similitud de daños observados en especies seleccionadas como biomonitores. En tal sentido se realizó,



la predicción de riesgo ecotoxicológico de forma interactuada comenzando con tres grupos de expresiones según las progresiones aritméticas de la tabla 29.

Tabla 29

Progresiones aritméticas secuenciales para optimizar el riesgo de predicción ambiental del modelo computacional Gecotoxic

X _____ 3X	X _____ 3X	X _____ 3X
4X _____ 7X	3X+1 _____ 6X	3X+1 _____ 5X
8X _____ 11X	6X+1 _____ 9X	5X+1 _____ 10X

Las expresiones presentadas constituyen una parte fundamental de la programación, ya que sirven para realizar una o varias operaciones sobre un dato o un conjunto de datos, obteniéndose luego, otro dato como resultado. Los operadores definen algunas de las instrucciones que pueden realizarse dentro de una expresión.

Una expresión es una combinación de operadores y operandos. Los datos u operandos pueden ser constantes, variables y llamadas a funciones. Cuando se ejecuta una sentencia de código que contiene una expresión, posteriormente se evalúa y toma un valor que depende del asignado previamente a las variables, constantes, operadores, además, de funciones.

El valor resultante de la evaluación sobre la expresión, correspondiendo a determinado tipo de dato. Relacionando las expresiones y tabulando valores para la variable X se pudo obtener los intervalos de riesgo (tabla 30).

Tabla 30

Progresiones aritméticas secuenciales de grupo I

I) X _____ 3X (R1)
II) 4X _____ 7X (R2)
III) 8X _____ 11X (R3)

Si X es el valor de peligro ($X=P$) y esta se considera con un valor cero (0), los valores de la expresión precedente y teniendo en consideración la ecuación de riesgo, entonces se presentarán las siguientes expresiones:

- $R = 0$: no existe riesgo alguno en las tres expresiones

Si $X = P = 1$ y $V = 3X$

- $R_1 = 1 + 3(1) = 4$ este valor indica que existe un riesgo

Si $P = 4X$ y $V = 7X$

- $R_2 = 4(1) + 7(1) = 11$. Este valor indica que se incrementa el riesgo en un 175% respecto al valor del R_1

Si $P = 8X$ y $V = 11X$

- $R_3 = 8(1) + 11(1) = 19$ este valor indica que se incrementa el riesgo en un 375% respecto al valor de R_1

Asimismo, si el valor de X se tabula con valores positivos, el nivel de riesgo se incrementa donde al relacionar la siguiente expresión y tabulando valores para la variable X, igualmente pueden obtenerse otros intervalos de riesgo (tabla 31).

Tabla 31

Progresiones aritméticas secuenciales de grupo II

I)	X	_____	3X (R1)
II)	3X+1	_____	6X (R2)
III)	6X+1	_____	9X (R3)

Realizando el análisis para las progresiones aritméticas secuenciales del grupo II, puede mencionarse que, si X es el valor de peligro ($X=P$) y esta se considera con un valor cero (0), los valores de la expresión precedente y teniendo en consideración la ecuación de riesgo, entonces en otro tipo de análisis podrá presentarse las siguientes expresiones:

Si $X = P = 0$ y $V = 3X$

- $R_1 = 0$; No existe riesgo

- $R_2 = 3(0) + 1 + 6(0) = 1$; si existe riesgo

- $R_3 = 6(0)+1+9(0) = 1$; si existe riesgo

Si $X=1$, $P = 3X+1$ y $V = 6X$

- $R_1 = 1 + 3(1) = 4$; si existe riesgo

- $R_2 = 3(1) + 1 + 6(1) = 10$; este valor indica que existe un riesgo de 150% respecto a R_1

- $R_3 = 6(1) + 1 + 9(1) = 16$; este valor indica que existe un riesgo de 300% respecto a R_1

Finalmente, el análisis para las progresiones aritméticas secuenciales del grupo III, puede de forma similar mencionar que, si X es el valor de peligro ($X=P$) y esta se considera con un valor cero (0), los valores de la expresión precedente y teniendo en consideración la ecuación de riesgo, entonces este tipo de análisis podrá presentarse según las siguientes expresiones y obtenerse los intervalos de riesgos (32).

Tabla 32

Progresiones aritméticas secuenciales de grupo III

I)	X	_____	$3X$ (R_1)
II)	$3X+1$	_____	$5X$ (R_2)
III)	$5X+1$	_____	$10X$ (R_3)

Si $X = P = 0$ y $V = 3X$

- $R_1 = 0$; no existe riesgo

- $R_2 = 3(0) + 1 + 5(0) = 1$; si existe riesgo

- $R_3 = 5(0) + 1 + 10(0) = 1$; si existe riesgo

Si $X = 1$, $P = 3X + 1$ y $V = 5X$

- $R_1 = 1 + 3(1) = 4$; si existe riesgo

- $R_2 = 3(1) + 1 + 5(1) = 9$; este valor indica que existe un riesgo de 125% respecto a R_1

- $R_3 = 5(1) + 1 + 10(1) = 16$; este valor indica que existe un riesgo de 300% respecto a R_1

Si el valor de X se tabula con valores positivos el nivel de riesgo, igualmente se incrementa.

Para la asignación de código arábigo se realizó previamente, la descripción del efecto ambiental donde el programa fue dependiente de tres condiciones iniciales (tabla 33): fuente contaminante, seguridad de parámetros físicoquímicos y análisis de indicadores biológicos naturales.

Tabla 33

Descripción del efecto ambiental generado por el modelo computacional Gecotoxic

FUENTE CONTAMINANTE					SEGURIDAD DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS			
Zona					Número de parámetros	categoría	I	4
1	Aproximación	Contaminantes de interés					II	2
2	Mezcla	I	II	≥ 3			III	1
3	Exposición	1	2	3	Cantidad de parámetros válidos	cumplen		0
Indicadores biológicos naturales						No cumplen		1
Daños (anexo 8)								
Trivial		1						
Leve		2						
Moderada		3						
Severa		4						
Extrema		5						

En cuanto a la fuente contaminante, la misma consideró una zona de análisis (aproximación, mezcla y exposición), así como el número de fuentes identificadas y los contaminantes de interés (quienes se expresan por matrices ambientales). De igual manera, fue considerada la seguridad de parámetros físico-químicos y

microbiológicos (cantidad de parámetros medidos como el número de ellos encontrados según la norma utilizada), así como la toxicidad del efecto ambiental sobre la base del tipo a evaluar (sustancia, compuesto o mezcla), el ensayo (microcosmo o batería) y el número de pruebas que presentan toxicidades, siendo las mismas impares (3 o 5) a determinar.

Para el análisis de indicadores biológicos se consideró el tipo de muestra, la cual estuvo evaluada, atendiendo a la magnitud de daño, siguiendo la clasificación reportada por Argota & Iannacone (2014b). Considerando que fue necesario evaluar las cargas contaminantes de residuales ambientales tributados por las fuentes identificadas como contaminantes o potenciales contaminantes fue que se concibió, la caracterización inicial sobre el efecto toxicológico que efectúan las mismas y para ello se considerados como menús el análisis de riesgo residual, seguridad de parámetros físico-químicos y toxicidad del efluente (tabla 34).

Tabla 34

Efecto toxicológico generado por el modelo computacional Gecotoxic

FUENTE CONTAMINANTE					SEGURIDAD DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS			
Tipo de fuente	difusa	Tipo de emisión	Continua de larga duración	5	Número de parámetros	categoría	I	3
	2		Continua de corta duración	3			II	5
	puntual		Intermitente de larga frecuencia	4			III	1
	1		Intermitente de baja frecuencia	2	Cantidad de parámetros válidos	cumplen	0	
Toxicidad del efluente						No cumplen	1	
mezcla	tóxica	1	Biodegradabilidad		Caracterización de riesgo			
	No tóxica	0	≤50%	1	PEC>PENEC	1		
			>50%	3	PEC<PENEC	2		

Asignados los códigos de puntuación para cada variable que correspondieron a los descriptores se procedió, a su lenguaje de programación y evaluaciones de situaciones ambientales de forma tal, que existió cruzamiento sobre conceptos de rangos donde se encontraron los intervalos en el análisis de riesgo, mediante la magnitud de su valor (tabla 35) y luego, pudo obtenerse 3 probabilidades de riesgo y consecuencias, 9 magnitudes así como, 3 grupos de rangos por tipos de consecuencias (figura 4).

Tabla 35

Magnitud del valor de riesgo

		Consecuencias		
		baja	media	alta
	baja	trivial	leve	moderada
Probabilidad	media	leve	moderada	severa
	alta	moderada	severa	extrema

Fuente: Argota & Iannacone (2014b)

Rango del tipo baja	$X - 3X$	$X - 3X$	$X - 3X$
Rango del tipo media	$4X - 7X$	$3X + 1 - 6X$	$3X + 1 - 5X$
Rango del tipo alta	$8X - 11X$	$6X + 1 - 9X$	$5X + 1 - 10X$

Figura 4. Correspondencia de rangos de riesgos / grupo de intervalos

Conjuntamente, 3 grupos de intervalos con diferentes secuencias de ecuaciones se obtuvieron donde al considerar que, la elaboración de los intervalos fue mediante la progresión aritmética de cada caso, entonces puede interpretarse la presencia ante 3 casos y que cada uno presenta su propia progresión (figura 5).

	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Rango del tipo baja	$X - 3X$	$X - 3X$	$X - 3X$
Rango del tipo media	$4X - 7X$	$3X + 1 - 6X$	$3X + 1 - 5X$
Rango del tipo alta	$8X - 11X$	$6X + 1 - 9X$	$5X + 1 - 10X$

Figura 5. Progresión aritmética por intervalos y rangos de riesgo / códigos redesignados

Realizando determinado ensayo y considerando $X = 1$, entonces se tuvo una primera matriz de datos que describió, tipo de rango en correspondencia con la probabilidad del daño o la consecuencia (figura 6).

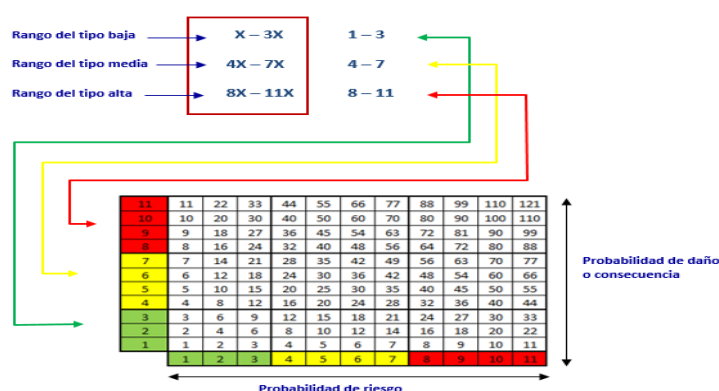


Figura 6. Matriz de interacción entre probabilidad del daño o la consecuencia y rangos por intervalos de riesgo

Integrando la tabla sobre la magnitud del valor del riesgo y multiplicándose la probabilidad del riesgo por la consecuencia o el daño pueden obtenerse, los 9 grupos de magnitudes del valor de riesgo, lo cual coincide con lo indicado por la tabla 24 por tanto; puede dimensionarse su ajuste óptimo para la predicción de riesgo ecotoxicológico (figura 7).

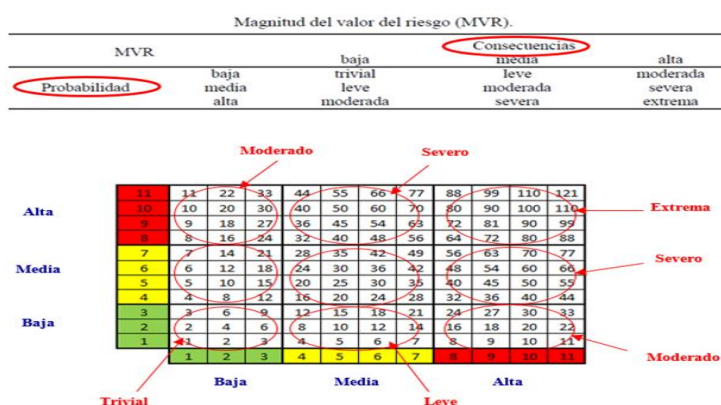


Figura 7. Matriz de ajuste óptimo de predicción para la interacción entre probabilidad de daño o consecuencia y rangos de por intervalos de riesgo

Aunque fue cierto que se tuvo la matriz de ajuste, no significó que existió correspondencia con la predicción de riesgo posible a generar por el modelo computacional Gecotoxic y la similitud de daños valorada en situaciones reales como se muestra en la tabla 36.

Tabla 36

Similitud de predicción de riesgo estimado / exposición a metales (mg.Kg⁻¹)

Herramienta	Magnitud del valor de riesgo			
	Análisis I		Análisis II	
Gecotoxic [®]	Medio *		Medio *	
Especie <i>Gambusia punctata</i>	Alto **		Medio **	
	Cu	44,08 ±2,11	Cu	32,27 ±3,42

Leyenda: medio *: considerando el cuadro 4; alto ** considerando análisis de histopatología en branquias (Argota et al., 2012a).

La tabla 37, puede mostrarse por ejemplo; la comparación entre los valores de Cu bioacumulado en branquias entre dos análisis realizado para la misma especie, lugar y dos momentos diferentes con relación a la utilización del modelo computacional Gecotoxic donde las condiciones de evaluación fueron similares.

Tabla 37

Resumen estadístico / condiciones de similitud

	Gp Cu 1	Gp Cu 2
Promedio	44,08	32,27
Desviación Estándar	0,01	0,01
Coefficiente de Variación	0,022686%	0,0309885%
Mínimo	44,07	32,26
Máximo	44,09	32,28
Sesgo Estandarizado	-2,26086E-12	-2,26086E-12

Esta tabla contiene el resumen estadístico para las dos muestras de datos. De particular interés fueron el sesgo estandarizado que puede usarse para comparar si las muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. En este caso, ambos valores de sesgo estandarizado se encontraron dentro del rango esperado. La comparación de las medias entre ambos análisis indicó lo siguiente:

Comparación de medias

- Intervalos de confianza del 95,0% para la media de Gp Cu 1: $44,08 \pm 0,0248414$ [44,0552; 44,1048]
- Intervalos de confianza del 95,0% para la media de Gp Cu 2: $32,27 \pm 0,0248414$ [32,2452; 32,2948]
- Intervalos de confianza del 95,0% intervalo de confianza para la diferencia de medias
- Suponiendo varianzas iguales: $11,81 \pm 0,0226696$ [11,7873, 11,8327]

Prueba t para comparar medias

- Hipótesis nula: $\mu_1 = \mu_2$; Hipótesis alt.: $\mu_1 \neq \mu_2$
- Suponiendo varianzas iguales: $t = 1446,42$ valor-P = 1,37068E-12
- Se rechaza la hipótesis nula para $\alpha = 0,05$

De interés particular fue el intervalo de confianza para la diferencia entre las medias, el cual se extendió desde 11,7873 hasta 11,8327. Puesto que el intervalo no contuvo el valor 0, existió diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las dos muestras con un nivel de confianza del 95,0% lo cual explicó, que no era posible esperar cuando las condiciones ambientales eran similares de manera que, esto indicó la necesidad de realizar ajustes en cuanto a la asignación de puntajes sobre las variables para el modelo computacional Gecotoxic, ya que el riesgo siguió informando la misma predicción.

Para ello, fue necesario solo rediseñar los puntos asignados al menú que refería a la seguridad de parámetros físico-químicos, pues al parecer indicaban intervalos muy abiertos en cuanto a la amplitud; y por ende, la puntuación se encontraba por encima de lo real, siendo menos preciso y exacto el riesgo final por interacción (tabla 38).

Tabla 38

Reajuste de códigos de puntuación (derecha) / seguridad de parámetros físico-químicos

SEGURIDAD DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS				SEGURIDAD DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS			
Número de parámetros	categoría	I	10	Número de parámetros	categoría	I	10
		II	5			II	5
		III	3			III	3
Cantidad de parámetros válidos		Cumplen	0	Cantidad de parámetros válidos		Cumplen	0
		No cumplen	1			No cumplen	1

Fue considerado apreciar que el número de contaminantes de interés determinado(s) por matriz, influyó en los análisis de daños sobre de la especie biomonitor por cuanto, algunos códigos de puntuación tuvieron que ser establecidos (tabla 39).

Tabla 39

Código de la variable contaminante de interés

FUENTE CONTAMINANTE				
zona				
1	aproximación	Contaminante de interés		
2	mezcla	I	II	≥ 3
3	exposición	1	3	5

La tabla 40 muestra las codificaciones finales para el menú referido al efecto ambiental que permitió la similitud del riesgo entre biomarcadores de la especie biomonitor con el modelo computacional Gecotoxic (figura 8), independientemente de cualquier condición que sea determinada en el medio.

Tabla 40

Código de puntuación del efecto ambiental ajustado

FUENTE CONTAMINANTE					SEGURIDAD DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS					
Zona					Número de parámetros	categoría	I	5		
1	Aproximación	Contaminantes de interés					Cantidad de parámetros válidos	cumplen	II	3
2	Mezcla	I	II	≥ 3					III	1
3	Exposición	1	2	3	No cumplen	0				
Indicadores biológicos naturales							1			
Daños (anexo 8)										
Trivial		1								
Leve		2								
Moderada		3								
Severa		4								
Extrema		5								

La asignación de nuevos códigos arábigos para el ajuste óptimo en la predicción de riesgo ecotoxicológico por Gecotoxic se basó en la inquietud de búsqueda sobre

mejorar la estimación de los posibles efectos adversos valorando en forma conjunta, el costo ambiental por pérdida de los recursos en el ecosistema acuático.

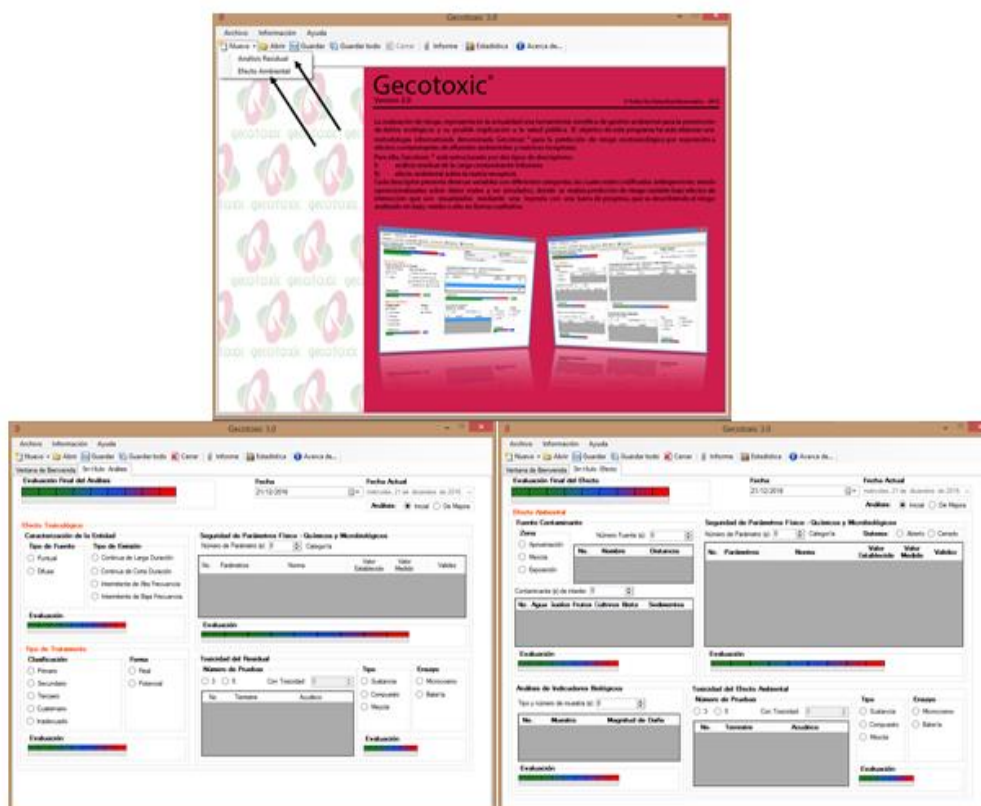


Figura 8. Ventana principal (superior), ventana de análisis residual (inferior izquierda) y ventana de efecto ambiental (inferior derecha) del modelo computacional Gecotoxic

En el modelo computacional Gecotoxic, pudo analizarse biomarcadores como expresión de la magnitud del valor de daño, siendo mejor interpretado para la predicción total del riesgo ecotoxicológico que anteriormente, era generado. Gecotoxic considera el uso de datos medidos en condiciones de laboratorio y campo, además, de índices ecológicos que son requeridos para las ERA (López *et al.*, 2016).

Con el ajuste óptimo para la incertidumbre del modelo computacional Gecotoxic sobre la predicción de riesgo ecotoxicológico, puede ser pretendido en alguna medida lo que se desea en la actualidad y es referido, a la medición económica de la calidad ambiental, considerándose no solo el posible bienestar animal, sino todo recurso posible a medir (Butler, Corvalan & Koren, 2005) integrando en forma

teórica y práctica, posibles análisis ecológicos con valores de recursos ecosistémicos (Volk *et al.*, 2007; Rzyka *et al.*, 2014).

Finalmente, los nuevos códigos arábigos de puntuación ante la similitud con daños en la especie *Gambusia punctata* posibilitaron que, el modelo computacional Gecotoxic, predijera el riesgo ecotoxicológico del ecosistema San Juan (figura 9), siendo el mismo de tipo alto (81%) con lo cual se correspondió, al poco valor del recurso que se estimó mediante el costo ambiental sostenible relativo.

Este modelo computacional Gecotoxic permite predecir el riesgo ecotoxicológico ante la contaminación de efluentes que se tributan sobre los ecosistemas acuáticos, además, de evaluarse las cargas contaminantes tributadas en cualquier matriz acuática receptora.

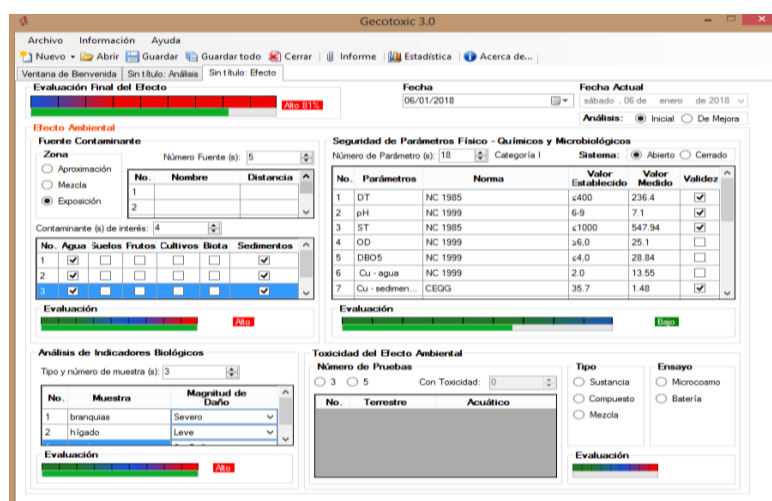


Figura 9. Predicción de riesgo ecotoxicológico del modelo computacional Gecotoxic para el ecosistema San Juan

CONCLUSIONES

- El costo ambiental sostenible se estimó como recurso de categoría poco sostenible relativo debido al incumplimiento regulatorio simultáneo de la demanda bioquímica de oxígeno y concentración de metales en las aguas
- No se halló correlación entre la bioacumulación de los metales en las branquias y el factor de condición de Fulton, la reproducción y actividad acetilcolinesterasa (solo en machos)
- El modelo computacional Gecotoxic indicó predicción de riesgo ecotoxicológico de tipo alto siendo limitado el uso de beneficio ecosistémico

RECOMENDACIONES

- Incorporar el análisis de los biomarcadores a la estimación del costo ambiental sostenible
- Evaluar en condiciones experimentales mediante otros modelos biológicos reconocidos por la Organización Económica de Cooperación y Desarrollo, los biomarcadores seleccionados en la especie *Gambusia punctata*
- Comparar la predicción de riesgo ecotoxicológico generado por el modelo computacional Gecotoxic con algún modelo validado

BIBLIOGRAFÍA

- AbdAllah, A.T. (2017). Efficiency of invertebrate animals for risk assessment and biomonitoring of hazardous contaminants in aquatic ecosystem, a review and status report. *Environ Risk Assess Remediat*; 1(1), 22–24.
- Ademollo, N., Capri, S., Patrolecco, L., Puddu, A., Polesello, S. & *et al.* (2011). Fate and monitoring of hazardous substances in temporary rivers. *TrAC Trends Anal Chem*; 30(8), 1222–1232.
- Adeogun, A.O., Ibor, O.R., Onoja, A.B. & Arukwe, A. (2016). Fish condition factor, peroxisome proliferator activated receptors and biotransformation responses in *Sarotherodon melanotheron* from a contaminated freshwater dam (Awba Dam) in Ibadan, Nigeria. *Marine Environmental Research*; 121, 74–86.
- Agudelo, C.R.Ma. (2005). El agua, recurso estratégico del siglo XXI. *Revista de la Facultad Nacional de Salud Pública*; 23, 91-102.
- Aguirre, P.J., Rodríguez, B.J. & Ospina, T.R. (2012). Deriva de macroinvertebrados acuáticos en dos sitios con diferente grado de perturbación, Río Gaira, Santa Marta-Colombia. *Intropica*; 7, 9–19.
- Ahmed, A.Y. (2015). Marine algae as biomonitors for heavy metals pollution at the Red Sea Coast: A review. *Red Sea University J*; 3, 49–60.
- Ahmed, M.K., Shaheen, N., Islam, M.S., Al-Mamun, M.H., Islam, S. & *et al.* (2015). Dietary intake of trace elements from highly consumed cultured fish (*Labeo rohita*, *Pangasius* and *Oreochromis mossambicus*) and human health risk implications in Bangladesh. *Chemosphere*; 128, 284–292.
- Alayo, P. (1973). Lista de peces fluviales de Cuba. *Torreia, nueva serie*; 29, 1–59.

- Al-Ghais, S.M. (2013). Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. *Marine Pollution Bulletin*; 74, 183–186.
- Ali, H., Khan, E. & Sajad, M.A. (2013). Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications. *Chemosphere*; 91, 869–881.
- Ali, M.M, Ali, M.L., Islam, M.S. & Rahman, M.Z. (2016). Preliminary assessment of heavy metals in water and sediment of Karnaphuli river, Bangladesh. *Environ Nanotechnol Monit Manag*; 5, 27–35.
- Alzugaray, S., Mederos, A. & Sutz, J. (2011): La investigación científica contribuyendo a la inclusión social. *Revista CTS*; 6(17), 11–30.
- Arenas, S.A. & Andreu, R.M.V. (2016). Effects of water scarcity and chemical pollution in aquatic ecosystems: State of the art. *Science of the Total Environment*; 572, 390–403.
- Arlos, M.J., Bragg, L.M., Parker, W.J. & Servos, M.R. (2015). Distribution of selected antiandrogens and pharmaceuticals in a highly impacted watershed. *Water Res*; 72, 40–50.
- Argota, P.G. & Argota, C.H. (2012). Evaluación ambiental del río San Juan de Santiago de Cuba por exposición bioacumulativa a metales pesados. *Revista MEDISAN*; 16(8), 1207–1214.
- Argota, P.G., Argota, C.H., Larramendi, G.D., Mora, T.Y., Fimia, D.R. & Iannacone, O.J. (2012a). Histología y química umbral de metales pesados en hígado, branquias y cerebro de *Gambusia punctata* (Poeciliidae) del río Filé de Santiago de Cuba. *Revista electrónica veterinaria REDVET*; 13(05B).
- Argota, P.G., González, P.Y., Argota, C.H., Fimia, D.R. & Iannacone, O.J. (2012b). Desarrollo y bioacumulación de metales pesados en *Gambusia punctata* (Poeciliidae) ante los efectos de la contaminación acuática. *Revista electrónica veterinaria REDVET*; 13(05B).
- Argota, P.G., Iannacone, O.J. & Eguren, I.G. (2012c). Proteínas totales y factor de bioconcentración por exposición a metales en la *Gambusia punctata* (Poeciliidae). *Revista MEDISAN*; 16(11), 1731–1735.

- Argota, P.G, Fimia, D.R. & Iannacone, O.J. (2013a). Análisis reproductivo y trófico en la *Gambusia punctata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) del río San Juan. *Revista electrónica veterinaria REDVET*; 14(6).
- Argota, P.G. & González, P.Y. (2013b). Determinación enzimática en órganos dianas por exposición a metales pesados en la *Gambusia punctata* (Poeciliidae). *Revista MEDISAN*; 17(2), 221–229.
- Argota, P.G., Argota, C.H. & Iannacone, O.J. (2013c). Evaluación ecotoxicológica histórica del ecosistema San Juan, Santiago de Cuba, Cuba. *Revista The Biologist*; 11(2), 229–236.
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. (2014) Metodología programada GECOTOX para la predicción de riesgo ecotoxicológico por efluentes y efectos contaminantes en ecosistemas acuáticos. *Revista The Biologist*, 12(2), 181–193.
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. (2014a). Problemas sociales de la ciencia con los biomonitores en ecotoxicología ambiental acuática. *Revista The Biologist*; 12(2), 335–347.
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. (2014c). Similitud en la predicción de riesgo ecológico entre el software Gecotox y biomarcadores en *Gambusia punctata* (Poeciliidae). *Revista The Biologist*; 12(1), 85–98.
- Argota, P.G., Argota, C.H. & Iannacone, O.J. (2016). Costo ambiental sostenible relativo a la variabilidad físico-química de las aguas sobre la disponibilidad de metales en el ecosistema San Juan, Santiago de Cuba-Cuba. *The Biologist*, 14(2), 219–232.
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. (2017) Predicción cuantitativa mediante biomarcadores de uso permanente como nuevo criterio para biomonitores en ecotoxicología acuática. *Revista The Biologist*; 17(1), 141–153.
- Argota, P.G. & Tamayo, R.S. (2012). Factor de condición biológico-ambiental en la *Gambusia punctata* y sus efectos para el control biológico larval. *Revista MEDISAN*; 16(9), 1378–1384.
- Arocena, R. (2014). La investigación universitaria en la democratización del conocimiento. *Revista Iberoamericana de Ciencia, Tecnología y Sociedad*; 9(27), 85–102.

- Ashauer, R., Agatz, A., Albert, C., Ducrot, V., Galic, N. & *et al.* (2011). Toxicokinetic-toxicodynamic modeling of quantal and graded sublethal endpoints: a brief discussion of concepts. *Environ Toxicol Chem*; 30(11), 2519–2524.
- Ashauer, R., Thorbek, P., Warinton, J.S., Wheeler, J.R. & Maund, S. (2013). A method to predict and understand fish survival under dynamic chemical stress using standard ecotoxicity data. *Environ Toxicol Chem*; 32(4), 954–965.
- Assis, C.R.D., Linhares, A.G., Oliveira, V.M., França, R.C.P., Santos, J.F. *et al.* (2015). Effect of ions on the activity of brain acetylcholinesterase from tropical fish. *Journal of Coastal Life Medicine*; 3, 505–514.
- Bahador, M., Moradi, A., Najji, A. & Dehghani, M. (2015). Anthropogenic impacts on heavy metals (Pb, Ni, Zn and Fe) concentration in surface sediments of Shoor River Estuary, Bandar Abbas. *J Aquat Ecol*; 5, 38–48.
- Balambigni, N. & Aruna, D. (2011). Impact of copper sulphate, an essential micronutrient on Ach, AChE and Na⁺K⁺ATPase in various tissues of the fish *Cyprinus carpio* (L.). *Research Journal of Environmental Toxicology*; 5, 141–146.
- Baptista, J., Pato, P., Duarte, A.C. & Pardal, M.A. (2013). Organochlorine contaminants in different tissues from *Platichthys flesus* (Pisces, *Pleuronectidea*). *Chemosphere*; 93, 1632–1638.
- Barceló, D. & Sabater, S. (2010). Water quality and assessment under scarcity: prospects and challenges in Mediterranean watersheds. *J Hydrol*; 383(1), 1–4.
- Barthi, N. & Katyal, D. (2011). Water quality indices used for surface water vulnerability assessment. *International Journal of Environmental Sciences*; 2, 154–173.
- Bennett, J.R., Sisson, D.R., Smol, J.P., Cumming, B.F., Possingham, H.P. & Buckley, Y.M. (2014). Optimizing taxonomic resolution and sampling effort to design cost-effective ecological models for environmental assessment. *J Appl Ecol*; 51, 1722–1732.
- Bergeron, M., De la Torre, M. & Harasi, O. (2012). A new scheme for innovation. An essay. *Interciencia*; 37(11), 857–860.

- Bernet, D., Schmidt, H., Wahli, T. & Burkhardt, P. (2004). Evaluation of two monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alterations in fish. *Hydrobiologia*; 524, 53–66.
- Bianchi, E., Goldoni, A., Trintinaglia, L., Lessing, G., Silva, C.E.M. & *et al.* (2015). Evaluation of genotoxicity and cytotoxicity of water samples from the Sinos River Basin, southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*; 75(2), 68–74.
- Binelli, A., Magni, S., Soave, C., Marazzi, F., Zuccato, E. & *et al.* (2014). The biofiltration process by the bivalve *D. polymorpha* for the removal of some pharmaceuticals and drugs of abuse from civil wastewaters. *Ecol. Eng*; 71, 710–721.
- Biol, M., Aure, M., Rita, A., Marta, L., Tiago, S.P. & Miguel, R. (2013). Physiological and behavioral responses of temperate seahorses (*Hippocampus guttulatus*) to environmental warming. *Mar Biol*; 1–8.
- Birk, S., Bonne, W., Borja, A., Brucet, S., Courrat, A. & *et al.* (2012). Three hundred ways to assess Europe's surface waters: an almost complete overview of biological methods to implement the Water Framework Directive. *Ecol Indic*; 18, 31–41.
- Birungi, Z., Masola, B., Zaranyika, M.F., Naigaga, I. & Marshall, B. (2007). Active biomonitoring of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*; 32, 15–18.
- Blair, B.D., Crago, J.P., Hedman, C.J. & Klaper, R.D. (2013). Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. *Chemosphere*; 93, 2116-2123.
- Borbón, J.F. & González, M.J.M. (2012). Exposición aguda a fentión en juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*): efectos tóxicos, cambios en actividad colinesterasa y uso potencial en monitoreo ambiental. *Revista Ciencias Salud*; 10, 43–51.
- Brinkmann, M., Eichbaum, K., Buchinger, S., Reifferscheid, G., Bui, T. & *et al.* (2014). Understanding receptor-mediated effects in rainbow trout: in vitro - in vivo extrapolation using physiologically based toxicokinetics models. *Environ Sci Technol*; 48, 3303–3309.

- Brown, A.R., Whale, G., Jackson, M., Marshall, S. & Hamer, M. *et al.* (2017). Towards the definition of specific protection goals for the environmental risk assessment of chemicals: lessons learned from a review of wider environmental legislation. *Integr Environ Assess Manag*; 13, 17–37.
- Brown, L.C. & Barnwell, T.O. (1987). Enhanced stream water quality models QUAL2E and QUAL2E-UNCAS: Documentation and user manual. Athens, Georgia: USEPA, Environmental Research Lab
- Brown, M.O., Gallardo, B.Y., Correa, S.A. & Barrios, G.S. (2015). El cambio climático y sus evidencias en las precipitaciones. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*; 36(1), 88–101.
- Brown, R.M., McClelland, N.I., Deininger, R.A. & Tozer, R.G. (1970). A Water Quality Index- Do We Dare?. *Water and Sewage Works*; 117, 339–343.
- Brunner, J.J. (2014). América Latina en la geopolítica internacional del conocimiento. *Revista Iberoamericana de Ciencia, Tecnología y Sociedad*; 27, 103–112.
- Butler, C.D., Corvalan, C.F. & Koren, H.S. (2005). Human health, well-being, and global ecological scenarios. *Ecosystems*; 8(2), 153–162.
- Çadraku, H., Gashi, F., Shala, A. & Fetoshi, O. (2016). Variations in the Physico-Chemical Parameters of under groundwater of Blinaja catchment, KOSOVO. *IFAC-PapersOnLine*; 49-29, 200–205.
- Camacho, S.M.I. (2007). Bioconcentración y toxicidad de metales en el langostino *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Revista de Toxicología*; 24, 14-17.
- Camara, E.M., Pellegrini, E. & Petry, A.C. (2011). Fator de condição: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em pesquisas ecológicas com peixes. *Oecologia Australis*; 15(2), 249–274.
- Capangpangan, R.Y., Pagapong, N.K., Pineda, C.P. & Sánchez, P.B. (2016). Evaluation of potential ecological risk and contamination assessment of heavy metals in sediment samples using different environmental quality indices—a case study in Agusan river, Caraga Philippines. *J Biodiver Environ Sci*; 8, 1–16.
- Carere, M., Miniero, R. & Cicero, M.R. (2011). Potential effects of climate change on the chemical quality of aquatic biota. *TrAC Trends Anal Chem*; 30(8), 1214–1221.

- Carmona, E., Andreu, V. & Pico, Y. (2014). Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water. *Sci. Total Environ*; 484, 5363.
- Carneiro, F.M., Nabout, J.C., Vieira, L.C.G., Lodi, S. & Bini, L.M. (2013). Higher Taxa Predict Plankton Beta-diversity Patterns Across an Eutrophication Gradient. *Nat Conserv*; 11, 43–47.
- Carpenter, R.A. (1995). Risk assessment. *Impact Assessment*; 13, 153–187.
- Carvalho, S.J., Menezes, M.S. & Guimaraes, A.T.B. (2013). Analysis of Cholinesterase enzyme activity in *Rinelocaria kronei* from coastal rivers in Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*; 8, 87–92.
- Cassanego, M.B.B., Sasamori, M.H., Petry, C.T. & Droste, A. (2015). Biomonitoring the genotoxic potential of the air on *Tradescantia pallida* var. *purpurea* under climatic conditions in the Sinos River basin, Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*; 75(4), 79–87.
- Castañe, P.M., Eissa, B.L. & Ossana, N.A. (2013). Respuesta de biomarcadores bioquímicos, morfológicos y comportamentales de la carpa común, *Cyprinus carpio*, por exposición a muestras ambientales. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*; 8, 41–47.
- Castro, R.F. (1992). Informe presentado en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre Medio Ambiente y Desarrollo. Pp 12. Ed. Granma, La Habana.
- Cervený, D., Turek, J., Grabic, R., Golovko, O., Koba, O. & *et al.* (2016). Young-of-the-year fish as a prospective bioindicator for aquatic environmental contamination monitoring. *Water Res*; 103, 334–342.
- Chapman, P.M. & Riddle, M.J. (2003). Missing and needed: polar marine ecotoxicology. *Mar Pollut Bull*; 46(8), 927–928.
- Chowdhury, R.M., Muntasir, S.Y. & Hossain, M.M. (2012). Water quality index of water bodies along Faridpur-Barisal road in Bangladesh. *Global Engineers & Technologists Review*; 2, 1–8.

- Cifuentes, R., González, J., Montoya, G., Alfonso, J., Ortiz, N. & et al. (2012). Relación longitud-peso y factor de condición de los peces nativos del río San Pedro (cuenca del río Valdivia, Chile). *Gayana*; 75(2), 101–110.
- Çiftçi, N., Ay, Ö., Karayakar, F., Cıçık, B. & Erdem, C. (2015). Effects of zinc and cadmium on condition factor, hepatosomatic and gonadosomatic index of *Oreochromis niloticus*. *Fresenius Environmental Bulletin*; 24(11A), 3871–3874.
- Clark, J.S., Carpenter, S.R., Barber, M., Collins, S., Dobson, A. & et al. (2001). Ecological forecasts: an emerging imperative. *Science*; 293, 657–660.
- Cortez, U.C. & Mendoza, A.J. (2012). Estructura de la comunidad macrobéntica en cuatro playas arenosas del Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo (Caribe Colombiano) sometidas a diferentes niveles de uso. *Intropica*; 7, 121–127.
- Corwin, D.L. & Brandford, S.A. (2008). Environmental impact and sustainability of degraded water reuse. *Journal of Environmental Quality*; 37, 1–7.
- Costa, S. C. & Hartz, S. M. (2009). Evaluation of trace metals (cadmium, chromium, copper and zinc) in tissues of a commercially important fish (*Leporinus obtusidens*) from Guaíba Lake, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*; 52(1), 241–250.
- Crane, M., Boxall, A.B.A. & Barrett, K. (2009). Veterinary Medicines in the environment. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)*; Pp 196. Pensacola, Florida. USA.
- Cudowski, A., Pietryczka, A. & Hauschild, T. (2015). Aquatic fungi in relation to the physical and chemical parameters of water quality in the Augustow Canal. *Fungal Ecology*; 13, 193–204.
- Da Costa, M.R. & Gerson, A.F (2003): Lengthweight relationship and condition factor of *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Perciformes, *Sciaenidae*) in the Sepetiba Bay, Rio de Janeiro State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*; 20(4), 685–690.
- Dadda, M., Pilastro, A. & Bisazza, A. (2005). Male sexual harassment and female schooling behaviour in the Eastern mosquito fish. *Animal Behaviour*, 70, 463–471.
- Dakoli, H. (2007). Hidrogeologjia (pjesa I), UP-FGJM. *Tiranë*; 111-174.

- Dalzochio, T., Ressel, S.L.A., Santos de Souza, M., Prado, R.G.Z., Petry, I.E. & *et al.* (2017). Water quality parameters, biomarkers and metal bioaccumulation in native fish captured in the ilha river, southern Brazil. *Chemosphere*; 189, 609–618.
- Datry, T., Bonada, N. & Heino, J. (2016). Towards understanding the organisation of metacommunities in highly dynamic ecological systems. *Oikos*; 125(2), 149–159.
- David, J., Múnera, O., Restrepo, F.C., Económica, V., Ambientales, D.E.C. & Conceptual, M. (2004). Costos Ambientales: Marco Conceptual y Métodos. *Semestre Económico*, 7(13), 159–193.
- De Siqueira, J.E. (2002). El principio de responsabilidad de Hans Jonas. El hombre como objeto de la tecnociencia. *En: Acosta-Sariego, J.R. (Ed. Científico). Bioética para la sustentabilidad. Acuario*; 87-123. La Habana. Cuba.
- Devos, Y., Romeis, J., Luttik, R., Maggiore, A., Perry, J.N. & *et al.* (2015). Optimising environmental risk assessments: accounting for ecosystem services helps to translate broad policy protection goals into specific operational ones for environmental risk assessments. *EMBO Rep*; 16, 1060–1063.
- Dias, J., Fernandez, W., Boufleur, L., Dos Santos, C., Amaral, L. & Yoneama, M. (2009). Biomonitoring study of seasonal anthropogenic influence at the Itamambuca beach (SP, Brazil). *Nucl Instr Meth Phys Res B*; 267, 1960–1964.
- Díaz, M.M. (1995). Biomonitoreo en sistemas lénticos: El uso de especies indicadoras. *Zoología informa*; 31, 17–35.
- Dipak, P. (2017). Research on heavy metal pollution of river Ganga. *Annals of Agrarian Science*; 278–286.
- Dixit, R., Wasiullah, Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U.B. *et al.* (2015). Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: An overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability (Switzerland)*; 7(2), 2189–2212.
- Duarte, R.; Sánchez-Chóliz, J. & Bielsa, J. (2002). Water use in the Spanish economy: an input-output approach. *Ecological Economics*; 43, 71–85.
- Durán, M. & Lara, M. (2013). Teoría de la psicología social. *Cuaderno hispanoamericano de Psicología* 1, 23–44.

- Egea, M.A., Rueda, G.F., Martínez, L. & García, G.B. (2002). Efecto de la realimentación tras un período de ayuno sobre el crecimiento en el *Sargo picudo* *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *Boletín Instituto Español de Oceanografía*; 18, 357–362.
- Eggen, T., Moeder, M. & Arukwe, A. (2010). Municipal landfill leachates: A significant source for new and emerging pollutants. *Science of the Total Environment*; 408(21), 5147-5157.
- Eigenmann, C.H. (1903). The fresh-water fishes of Western Cuba. *Bulletin of the United State fish Commission*; 2, 211–236.
- Eissa, B., Salibián, A., Ferrari, L., Porta, P. & Borgnia, M. (2003). Evaluación toxicológica no invasiva del cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus carpio*. *Biología Acuática*; 20, 56–62.
- Elgallal, M., Fletcher, L. Evans, B. (2016). Assessment of potential risks associated with chemicals in wastewater used for irrigation in arid and semiarid zones: A review. *Agric. Water Manag*; 177, 419–431.
- Escher, B.I. & Hermens, J.L. (2004). Internal exposure: linking bioavailability to effects. *Environ Sci Technol*; 38(23), 455–462.
- European Commission. (2006). Commission Regulation No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off. J. Eur. Commun. L* 364/5, 20.
- Fahd, F., Khan, F., Hawboldt, K. & Abbassi, R. (2014). Developing a novel methodology for ecological risk assessment of thiosalts. *Stoch. Env. Res Risk A*; 28(2), 383–391.
- Falcón, H.B., Forrellat, B.A. & Carrillo, F.O. & Ubieta, H.K. (2011). Digestive enzymes of two freshwater fishes (*Limia vittata* and *Gambusia punctata*) with different dietary preferences at three development stages. *Comparative Biochemical Physiology B Biochemical Molecular Biology*; 158, 136–141.
- Felipa, G., Blas, W. & Alcántara, F. (2016). Relación longitud-peso, factor de condición y tabla estándar del peso de mil alevinos de gamitana (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) criados en estanques artificiales. *Folia Amazónica*; 25(1), 17–24.
- Färe, R., Grosskopf, S. & Pasurka, C.A. (2014). Potential gains from trading bad outputs: The case of us electric power plants. *Resource and Energy Economics*; 36, 99–112.

- Ferrante, M., Pappalardo, A.M., Ferrito, V., Pulvirenti, V., Fruciano, C. & *et al.* (2017). Bioaccumulation of metals and biomarkers of environmental stress in *Parablennius sanguinolentus* (Pallas, 1814) sampled along the Italian coast. *Marine Pollution Bulletin*; (Article in Press)
- Fishbase. (2013). *Gambusia punctata* Poey, 1854. En: <http://www.fishbase.org/summary/Gambusiapunctata>.
- Fong, G.A. & Garcés, G.G. (1997). Notas sobre la alimentación de *Gambusia puncticulata*, Poey (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) en un hábitat marino. *Biodiversidad de Cuba Oriental*; 2, 54-58.
- Forero, P.C. & Jaramillo, S.H. (2002). El acceso de los investigadores de los países menos desarrollados a la ciencia y la tecnología internacional - UNESCO. *Revista Internacional de Ciencias Sociales*, 175–192.
- Förstner, U. & Wittman, G. (1983). *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag, New York.
- Fuentes, R., Torregrosa, T. & Ballenilla, E. (2015). Conditional order-m efficiency of wastewater treatment plants: The role of environmental factors. *Water*; 7, 5503–5524.
- García, L. & Iannacone, J. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* an additional indicator of drinking water quality: A South American bibliographic analysis. *The Biologist*, 12, 133–152.
- Ghasemi, S., Siavash, M.S., Rahimi, A., Damalas, C.A. & Naji, A. (2017). Ecological risk assessment of coastal ecosystems: the case of mangrove forests in Hormozgan Province, Iran. *Chemosphere*; 1–37.
- Giulio, R.T. & Hinton, D.E. (2008). *The Toxicology of Fishes*. CRC press, Taylor and Francis Group, Boca Raton

- Gomes, J., Costa, R., Quinta, F.R.M. & Martins, R.C. (2017). Application of ozonation for pharmaceuticals and personal care products removal from water. *Science of The Total Environment*; 586, 265–283.
- Gomes, L.F., Vieira, L.C.G. & Bonnet, M.P. (2015). Two practical approaches to monitoring the zooplanktonic community at Lago Grande do Curuai, Pará, Brazil. *Acta Amaz*; 45, 293–298.
- Guimarães, M.H., Mascarenhas, A., Sousa, C., Boski, T. & Ponce, D.T. (2012). The impact of water quality changes on the socio-economic system of the Guadian Estuary: an assessment of management options. *Ecology and Society*; 17, 38.
- Gupta, N., Pandey, P. & Hussain, J. (2017). Effect of physicochemical and biological parameters on the quality of river water of Narmada, Madhya Pradesh, India. *Water Science*; 31, 11–23.
- Gupta, N., Yadav, K.K., Kumar, V. & Singh, D. (2013). Assessment of physicochemical properties of Yamuna river in Agra city. *Int J Chem Tech Res*; 5, 528–531.
- Gutiérrez, G.E. (2007). De las teorías del desarrollo al desarrollo sustentable. Historia de la construcción de un enfoque multidisciplinario. *Trayectorias*; 9(25), 45–60.
- Haines, Y.R.H. & Potschin, M.P. (2010). The links between biodiversity, ecosystem services and human well-being. In: Raffaelli, D., Frid, C. (Eds.), *Ecosystem Ecology: A New Synthesis*. Cambridge University Press
- Hamilton, S.K., Bunn, S.E., Thoms, M.C. & Marshall, J.C. (2005). Persistence of aquatic refugia between flow pulses in a dryland river system (Cooper Creek, Australia). *Limnol Oceanogr*; 50(3), 743–754.
- Hamza, C.A. (2014). Usefulness of Bioindicators and Biomarkers in Pollution Biomonitoring. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*; 3, 19–26.
- Han, W., Fu, F., Cheng, Z., Tang, B. & Wu, S. (2016). Studies on the optimum conditions using acidwashed zero-valent iron/aluminum mixtures in permeable reactive barriers for the removal of different heavy metal ions from wastewater. *J Hazard Mater*; 302, 437–446.

- He, J., Zhang, H., Zhang, H., Guo, X., Song, M., Zhang, J. & Li, X. (2014). Ecological risk and economic loss estimation of heavy metals pollution in the Beijiang River. *Ecological Chemistry and Engineering*; 21, 189–199.
- Heidary, S., Imanpour Namin, J. & Monsefrad F. (2012). Bioaccumulation of heavy metals Cu, Zn, and Hg in muscles and liver of the stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) in the Caspian Sea and their correlation with growth parameters. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*; 11, 325–337.
- Heino, J. (2014). Taxonomic surrogacy, numerical resolution and responses of stream macroinvertebrate communities to ecological gradients: are the inferences transferable among regions?. *Ecol Indic*; 36, 186–194.
- Held, M. & Soden, J. (2000). Water vapour feedback and global warming. *Annual Review of Energy and the Environment*; 25: 441–475.
- Hellawell, J.M. (1986). Biological indicators of freshwater pollution and environmental management. Amsterdam: Elsevier.
- Hernández Muñoz, LE. Armas Montero, M. (2009). Notas sobre ética médica y bioética. *En: separata de Hernández Muñoz, L.E. Ética y bioética.*
- Herrera, D. (2004). La intervención Bioética. *En: ILé Anuario de ecología, cultura y sociedad* (4). Editorial Félix Varela, 57-59. La Habana, Cuba.
- Herrera, P.M. & Hiscock, K.M. (2015). Projected impacts of climate change on water availability indicators in a semi-arid region of central Mexico. *Environ Sci Pol*; 54, 81–89.
- Herriks, E.E., Schaeffer, D.J. & Perry, J.A. (1989). Biomonitoring: closing the loop in the environmental sciences. In: *Ecotoxicology: Problems and Approaches* (Levin, S.A.; Harwell, M.A.; Kelly, J.R. & Kimball, K.D., eds). New York: Springer-Verlag, 351-366.
- Hommen, U., Baveco, J.M., Galic, N. & Van den Brink, P.J. (2010). Potential application of ecological models in the European environmental risk assessment of chemicals. I: review of protection goals in EU directives and regulations. *Integr Environ Assess Manag*; 6, 325–337.

- Iannacone, J. & Alvarino, L. (1997). Peces larvivoros con potencial para el control biológico de estados inmaduros de zancudos en el Perú. *Revista peruana de Entomología*; 40, 9–19.
- Iannacone, J. & Alvarino, L. (2005). Efecto ecotoxicológico de tres metales pesados sobre el crecimiento radicular de cuatro plantas vasculares. *Agricultura técnica*; 65, 198–203.
- Iannacone, J.O., Alvarino, F.L., Valle, R.V., Ymaña, B., Argota, G. *et al.*, (2016). Toxicidad de agentes antiparasitarios, antimicrobianos e insecticidas sobre larvas del camarón salino *Artemia franciscana* (Crustacea: Artemiidae). *Revista de Toxicología*; 33, 31–38.
- Islam, M.S., Ahmed, M.K., Habibullah, A.M., Islam, K.N., Ibrahim, M. & Masunaga, S. (2014). Arsenic and lead in foods: a potential threat to human health in Bangladesh. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*; 31(12), 1982–1992.
- Jebali, J., Khedher, S. Ben, Sabbagh, M., Kamel, N. & *et al.* (2013). Cholinesterase activity as biomarker of neurotoxicity: utility in the assessment of aquatic environment contamination. *Revista de Gestão Costeira Integrada*; 13(4), 525–537.
- Jiajun, H., Huimin, Z. Hui, Z., Xuan, G., Mingwei, S., Junhao, Z. & Xiaotao, L. (2014). Ecological risk and economic loss estimation of heavy metals pollution in the Beijiang River. *Ecol Chem Eng S*; 21(2), 189–199.
- Joern, A. & Hoagland, K.D. (1996). In defense of hole-community bioassays for risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 15, 407–409.
- Jonge, M., Belpaire, C., Van Thuyne, G., Breine, J. & Bervoets, L. (2015). Temporal distribution of accumulated metal mixtures in two feral fish species and the relation with condition metrics and community structure. *Environmental Pollution*; 197, 43–54
- Jorkesh, S., Salehi, M. & Esfandiarpour, I. (2014). Comparison of the spatial variability of magnetic susceptibility and some of heavy metals in soils of Lenjanat Region, Isfahan. *J Water Soil*; 28, 575–586.
- José, P., Filho, S., Caldas, J.S., Nunes, N., Osvaldo, F. & Pereira, P. (2017). Toxicity test

- and Cd, Cr, Pb and Zn bioaccumulation in *Phalloceros caudimaculatus*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*; 1–6.
- Kaewtubtim, P., Meeinkuirt, W., Seepom, S. & Pichtel, J. (2016). Heavy metal phytoremediation of plant species in a mangrove ecosystem in Pattani Bay, Thailand. *Appl Ecol Environ Res*; 14, 367–382.
- Kankal, N.C., Indurkar, M.M., Gudadhe, S.K. & Wate, S.R. (2012). Water quality Index of surface water bodies of Gujarat. *India Asian Journal of Experimental Sciences*; 26, 39–48.
- Kashyap, R. Verma, H.S., Bhardwaj, S.K., Mahajan, P.K., Sharma, J.K., Sharma, R. (2016). Water chemistry of Yamuna river along Ponta Sahib industrial hub of Himachal Pradesh, India. *Res Environ Life Sci*; 9, 277–281.
- Kirkby, M. & Froebrich, J. (2006). In: Froebrich, J., Bauer, M. (Eds.), Critical Issues in the Water Quality Dynamics of Temporary Waters – Evaluation and Recommendations from the Tempqsim Project. Institute for Water Quality and Waste Management, 8–11. University of Hanover-Hanover, Germany.
- Kleiche, D.M., Zubieta, G.J. & Rodríguez, S.M.L. (2013). La institucionalización de las disciplinas científicas en México (siglos XVIII, XIX y XX): estudios de caso y metodología. Ed. Primera. Prehis institucionalización. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Investigaciones Sociales - Institut de recherche pour le développement. ISBN: 978-607-02-4354-7.
- Kobelkowsky, D.A. & Alva, G.A. (2000). Anatomía sexual de *Gambusia regani* (Pisces: Poeciliidae). *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoología*; 71, 133–142.
- Kuhn, T. (1982). La estructura de las revoluciones científicas. Fondo de cultura económica, México.
- Kumar, G., Kumar, M. & Ramanathan, A. (2015). Assessment of heavy metal contamination in the surface sediments in the mangrove ecosystem of Gulf of Kachchh, West Coast of India. *Environ Earth Sci*; 74, 545–556.
- Lakatos, I. (1983). La metodología de los programas de investigación científica, 2. Editorial Alianza, Madrid.

- Lakshmanan, R., Kesavan, K., Vijayanand, P., Rajaram, V. & Rajagopal, S. (2009). Heavy metals accumulation in five commercially important fishes of Parangipettai, Southeast coast of India. *Advance Journal of Food Science and Technology*; 1, 63–65.
- Landeiro, V.L., Bini, L.M., Costa, F.R.C., Franklin, E., Nogueira, A. & *et al.* (2012). How far can we go in simplifying biomonitoring assessments? An integrated analysis of taxonomic surrogacy, taxonomic sufficiency and numerical resolution in a megadiverse region. *Ecol Indic*; 23, 366–373.
- Lara, A., Ponce de León, J.L., Rodríguez, R., Casane, D., Cote, G., & *et al.* (2010). DNA barcoding of Cuban freshwater fishes: evidence for cryptic species and taxonomic conflicts. *Molecular Ecology Resources*; 10, 421–430.
- Lee, J. & Dhar, B. (2012). Bio-processing of solid wastes and secondary resources for metal extraction– A review. *Waste Manag*; 32, 3–18.
- Leyton, F.S.A., Muñoz, E., Gordillo, S.M., Sánchez, G.G.C., Muñoz, L.A. & Soto, D.A (2015). Estimación del factor de condición de Fulton (K) y la relación longitud-peso en tres especie ícticas presentes en un sector sometido a factores de estrés ambiental en la cuenca alta del río Cauca. *Rev Asoc Col Cienc*; 27: 24–31.
- Lima, L.A. (2005). Determinación de metales pesados en componentes bióticos y abióticos del río Almendares. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Químicas. Instituto de Tecnologías y Ciencias Aplicadas. La Habana, Cuba.
- Liu, J. & Wong, M. (2013). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): a review on environmental contamination in China. *Environ. Int*; 59, 208–224.
- Li, Y. & Cai, Y. (2015). Mobility of toxic metals in sediments: assessing methods and controlling factors. *Journal of Environmental Sciences*; 31, 203–205.
- Loaiciga, A.; Valdes, J.; Vogel, R.; Garvey, J. & Schwarz, H. (1996). Global warming and the hydrologic cycle. *Journal of Hydrology*; 174, 83–127.
- Lock, E.A. & Bonventre, J.V. (2008). Biomarkers in translation; past, present and future. *Toxicology*; 245(3), 163–166.

- Lodge, D.M., Deines, A., Gherardi, F., Yeo, D.C., Arcella, T. & *et al.* (2012). Global introductions of crayfishes: evaluating the impact of species invasions on ecosystem services. *Annu Rev Ecol Evol Syst*; 43, 449–472.
- López, I.D., Figueroa, A. & Corrales, J.C. (2016). A Systematic Mapping of Water Quality Prediction Using Computational Intelligence Techniques. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*; 15(28), 35–51.
- Lu, B., Du, X. & Huang, S. (2017). The economic and environmental implications of wastewater management policy in China: From the LCA perspective. *Journal of Cleaner Production*, 142, 3544–3557.
- Luísa, A., Barbosa, V., Alves, R., Custódio, A., Anacleto, P., Repolho, T. & *et al.* (2017). Ecophysiological responses of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*) exposed to increased temperature and dietary methylmercury. *Science of the Total Environment*; 1–8.
- Lukomski, A. & Mancipe, E. (2008). El paradigma emergente y su impacto en la investigación epistemológica de las ciencias sociales. *Revista de Investigaciones*; 10, 133-145.
- Luoma, S. & Rainbow, P. (2008). Metal Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Management. Cambridge University Press, New York.
- MacNeil, C., Boets, P., Lock, K. & Goethals, P.L. (2013). Potential effects of the invasive ‘killer shrimp’ (*Dikerogammarus villosus*) on macroinvertebrate assemblages and biomonitoring indices. *Freshw Biol*; 58, 171–182.
- Madeira, D., Narciso, L., Cabral, H.N., Vinagre, C. & Diniz, M.S. (2013). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*; 166(2), 237–243.
- Mailler, R., Gasperi, J., Coquet, Y., Bulete, A., Vulliet, E., Deshayes, S. & *et al.* (2016). Removal of a wide range of emerging pollutants fbed as tertiary treatment at large pilot scale. *Sci. Total Environ*; 542, 983–996. Part A.
- Maltby, L. (2013). Ecosystem services and the protection, restoration and management of ecosystems exposed to chemical stressors. *Environ Toxicol Chem*; 32, 974–983.

- Management Programme for the Gorgon Development: MPGD. (2004). Risk assessment process. Chapter 9. Draft Environmental Impact Statement/Environmental Review and Management Programme for the Gorgon Development, 288–301.
- Marcato, A.C.C., Yabuki, A.T. & Fontanetti, C.S. (2014). Nickel exposure promotes osmoregulatory disturbances in *Oreochromis niloticus* gills: histopathological and energy dispersive spectrometry analysis. *Environmental Science and Pollution Research*; 21, 13095–13102.
- Market, B., Pedrozo, F. & Geller, W. (1997). A contribution to the study of the heavymetal and nutritional element status of some lakes in the southern Andes of Patagonia (Argentina). *The Science of the Total Environment*; 206, 1–15.
- Martín, J.R., De Arana, C., Ramos, M.J.J., Gil, C. & Boluda, R. (2015). Impact of 70 years urban growth associated with heavy metal pollution. *Environ. Pollut*; 196, 156-163.
- Martin, M.H. & Coughtrey, P.J. (1990). Land and Air. Applied Science Publishers. London and New York.
- Martínez, F.L. Torrado, N.Y.P. (2015). Fiebre Chikungunya. *Revista Cubana de Medicina*; 54(1), 74–96.
- Maseke, F.O., Omukoto, J.O. & Nyakeya, K. (2013). Biomonitoring as a pre-requisite for sustainable water resources: a review of current status, opportunities and challenges to scaling up in East Africa. *Ecohydrol Hydrobiol*; 13(3), 173–191.
- Mathers, K.L., Chadd, R.P., Dunbar, M.J., Extence, C.A., Reeds, J. & *et al.* (2016a). The long-term effects of invasive signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) on instream macroinvertebrate communities. *Sci Total Environ*; 556, 207–218.
- Mathers, K.L., Chadd, R.P., Extence, C.A., Rice, S.P. & Wood, P.J. (2016b). The implications of an invasive species on the reliability of macroinvertebrate biomonitoring tools used in freshwater ecological assessments. *Ecol Indic*; 63, 23–28.
- Mavárez, R.M.L (2002). El problema de la objetividad en la investigación social. *Revista Educere*; 6, 141-144.

- Mazón, M. (2016). Taking shortcuts to measure species diversity: parasitoid Hymenoptera subfamilies as surrogates of species richness. *Biodivers Conserv*; 25, 67–76.
- McEneff, G., Quinn, B., Bennion, M., Dolan, S., O'Rourke, K. & Morrison, L. (2017). Bioaccumulation of metals in juvenile rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) via dietary exposure to blue mussels. *Chemosphere*; 188, 548–556.
- McPeck, M. (1992). Mechanisms of sexual selection operating on body size in the mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Behav Ecol*; 3, 1–12.
- Merrington, G., Peters, A. & Schlekot, C.E. (2016). Accounting for metal bioavailability in assessing water quality: a step change?. *Environ Toxicol Chem*; 35(2), 257–265.
- Miege, C., Choubert, J.M., Ribeiro, L., Eusebe, M. & Coquery, M. (2009). Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants e conception of a database and first results. *Environ Pollut*; 157, 1721–1726.
- Millennium Ecosystem Assessment (2005). *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis* Island Press. Washington, DC
- Miller, F.J., Schlosser, P.M. & Janszen, D.B. (2000). Haber's rule: a special case in a family of curves relating concentration and suration of exposure to a fixed level of response for a given endpoint. *Toxicology*; 149, 21–34.
- Miller, N.R. Rose, K. (2014). Simulating the effects of fluctuating dissolved oxygen on growth, reproduction, and survival of fish and shrimp. *Journal of Theoretical Biology*; 343, 54–68.
- Molina, C.I., Ibañez, C. & Gibon, F.M. (2012). Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores Biomagnification process of heavy metals of a hiperhaline lake. *Ecología en Bolivia*; 47(2), 99–118.
- Molinos, S.M., Hernández, S.F., Mocholí, A.M. & Sala, G.R. (2014). Economic and environmental performance of wastewater treatment plants: potential reductions in greenhouse gases emissions. *Resource and Energy Economics*; 38, 125–140.

- Molinos, S.M., Sala, G.R. & Lafuente, M. (2015). The role of environmental variables on the efficiency of water and sewerage companies: a case study of Chile. *Environmental Science and Pollution Research*; 22, 10242–10253.
- Mongomery, D.C. (2004). Diseño y análisis de experimentos. 3ra edición. Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba.
- Montenegro, C.S.S.; Ambrocio, B.N. & Iannacone, J. (2015). Modelo estadístico para estimar la población que recibe ayuda humanitaria por desastres en el Perú. *The Biologist*; 13, 375–390.
- Morais, S.A., Delerue, M.C. & Gabarrell, X. (2014). An uncertainty and sensitivity analysis applied to the prioritisation of pharmaceuticals as surface water contaminants from wastewater treatment plant direct emissions. *Sci Total Environ*; 490, 342–350.
- Morgan, M. & Henrion, M. (1990). Uncertainty: A guide to dealing with uncertainty in quantitative risk and policy analysis. Cambridge University Press, NY
- Moriarty, F. (1983). Ecotoxicology: the study of pollutants in ecosystems. London: Academic Press.
- Mouquet, N., Lagadeuc, Y., Devictor, V., Doyen, L., Duputié, A. & *et al.* (2015). Predictive ecology in a changing world. *J Appl Ecol*; 52, 1293–1310.
- Munns Jr., W.R., Helm, R.C., Adams, W.J., Clements, W.H., Cramer, M.A. & *et al.* (2009). Translating ecological risk to ecosystem service loss. *Integr Environ Assess Manag*; 5, 500–514.
- Nahlik, A.M., Kentula, M.E., Fennessy, M.S. & Landers, D.H. (2012). Where is the consensus? A proposed foundation for moving ecosystem service concepts into practice. *Ecol Econ*; 77, 27–35.
- Nienstedt, K.M., Brock, T.C.M., Van Wensem, J., Montforts, M., Hart, A. & *et al.* (2012). Development of a framework based on an ecosystem services approach for deriving specific protection goals for environmental risk assessment of pesticides. *Sci Total Environ*; 415, 31–38.
- Odum, E.P. (1986). Ecología. 3^{ra} ed. Barcelona: Editorial Vedral. Pp 476.

- Olivares, C.G. Naranjo, L.C., López del Castillo, P. & Morell, B.A. (2012). Valoración de la calidad del agua del río San Juan de Santiago de Cuba asociado a un foco de contaminación Industrial. *Ciencia en su PC*; 4: 99–111.
- Olsen, G.H., Smit, M.G.D., Carroll, J., Jaeger, I., Smith, T. & Camus, L. (2011). Arctic versus temperate comparison of risk assessment metrics for 2-methyl-naphthalene. *Mar Environ Res*; 72, 179–187.
- Organisation for Economic Cooperation and Development: OECD. (2016). Guidance on the incorporation of bioavailability concepts for assessing the chemical ecological risk and/or environmental threshold values of metals and inorganic metal compounds. Series on Testing & Assessment No. 259. Inter-organization Programme for the Sound Management of Chemicals. Paris. Recuperado en: [https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2016\)66/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2016)66/en/pdf)
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: FAO. (1992). Prevención de la contaminación del agua por la agricultura y actividades a fin. Informes sobre temas hídricos. Santiago de Chile, Chile.
- Organization for Economic Cooperation and Development: OECD. (2008). OECD Environment Outlook to 2030. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development
- Oropesa, A., Pérez, M., Hernández, D., García, J., Fidalgo, L., López, B., A. & Soler, F. (2007). Acetylcholinesterase activity in seabirds affected by the Prestige oil spill on the Galician coast (NW Spain). *Science of the Total Environment*; 372, 532–538.
- Orrego, R., Moraga, C.G., González, M., Barra, R., Valenzuela, A. & *et al.* (2005). Reproductive, physiological, and biochemical responses in juvenile female Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sediment from pulp and paper mill industrial discharge areas. *Environ Toxicol Chem*; 24(8), 1935–43.
- Osorio, V., Proia, L., Ricart, M., Pérez, S., Ginebreda, A. & *et al.* (2014). Hydrological variation modulates pharmaceutical levels and biofilm responses in a Mediterranean river. *Sci Total Environ*; 472, 1052–1061.
- OSPAR. (2014). Levels and trends in marine contaminants and their biological effects Coordinated Environmental Monitoring Programme (CEMP) Assessment Report 2013, London, 637 UK.

- Öztürk, M., Özözen, G., Minareci, O. & Minareci, E. (2009). Determination of heavy metals in fish, water and sediments of Avsar Dam Lake in Turkey. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*; 6, 73–80.
- Páez, O.F. & Osuna, M.C. (2011). Biomonitores de la contaminación costera con referencia a las costas mexicanas: una revisión sobre los organismos utilizados. *Hidrobiológica*; 21, 229–238.
- Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M. & Gin, K.Y.H. (2014). Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environ Int*; 71, 46–62.
- Papis, E. & Awadhes, N.J. (2011). Relative sensitivity of fish and mammalian cells to the antibiotic, trimethoprim: cytotoxic and genotoxic responses as determined by neutral red retention, Comet and micronucleus assays. *Ecotoxicology*; 20, 208–217.
- Parkhurst, B. (1995). Risk management methods. Water Environment and Technology. Washington, DC: Water Environment Federation
- Patlewicz, G. & Fitzpatrick, J.M. (2016). Current and future perspectives on the development, evaluation, and application of in silico approaches for predicting toxicity. *Chem Res Toxicol*; 29, 438–451.
- Peng, J.F., Song, Y.H., Yuan, P., Cui, X.Y. & Qiu, G.L. (2009). The remediation of heavy 615 metals contaminated sediment. *J Hazard Mat*; 161, 633–640.
- Pensado, F.M.E. & Ortiz, G.J.M. (2013). Algunos fundamentos educativos y administrativos para la propuesta de creación de la línea de generación y aplicación del conocimiento: Gestión Educativa en el Instituto de Investigaciones y Estudios Superiores de las Ciencias Administrativas. *Ciencia Administrativa*; 2, 1–8.
- Pereyra, P.J., Rossini, G.B. & Darrigran, G. (2012). Toxicity of Neem's oil, a potential biocide against the invasive mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857). *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*; 84(4), 1065–1071.
- Pérez, L.S. & Schmitter, S.J.J. (2007). Distribución y Taxonomía del género *Gambusia* (*Teleostei: Poeciliidae*) en el norte y oriente de la Península de Yucatán, México. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo*; 23, 167–171.
- Pérez, M.A., Peña, M.R. & Alvarez, P. (2011). Agro Industria Cañera y uso del agua:

- análisis crítico en el contexto de la política de agrocombustibles en Colombia. *Ambiente & Sociedad*; XIV(2), 153–178.
- Pesson, P. (1979). La contaminación de las aguas continentales. Incidencia sobre las biocenosis acuáticas. Ed. MundiPrensa. Madrid; Pp 335.
- Petchey, O.L., Pontarp, M., Massie, T.M., Kéfi, S., Ozgul, A. & *et al.* (2015). The ecological forecast horizon, and examples of its uses and determinants. *Ecol Lett*; 18, 597–611.
- Petrovic, M., Ginebreda, A., Acuña, V., Batalla, R.J., Elozegi, A. & *et al.* (2011). Combined scenarios of chemical and ecological quality under water scarcity in Mediterranean rivers. *TrAC Trends Anal Chem*; 30(8), 1269–1278.
- Phillips, D. J. H. & P. S. Rainbow. (1994). Biomonitoring of trace aquatic contaminants. Ed. Chapman and Hall, Boca Raton, Florida. Pp 371.
- Picazo, T.A.J., Sáez, F.F.J. & González, G.F. (2008). Does service quality matter in measuring the performance of water utilities? *Utilities Policy*; 16, 30–38.
- Piedra, H.D. (2010). La Ciencia y la Ética. *Revista Redbioética/UNESCO*; 1, 21–27.
- Piggott, J.J., Townsend, C.R. & Matthaei, C.D. (2015). Reconceptualizing synergism and antagonism among multiple stressors. *Ecol Evol*; 5:1538–1547.
- Plant, J., Smith, D., Smith, B. & Williams, L. (2001). Environmental geochemistry at the global scale. *Applied Geochemistry*; 16, 1291–1308.
- Ponce de León, G.J.L. & Rodríguez, S.R. (2010). Peces cubanos de la familia *Poeciliidae*. Guía de campo. Editorial Academia. La Habana, Cuba.
- Ponsadailakshmi, S., Ganapathy, S.S., Mythili, P.S. & Madhurambal, G. (2018). Evaluation of water quality suitability for drinking using drinking water quality index in Nagapattinam district, Tamil Nadu in Southern India. *Groundwater for Sustainable Development*; 6, 43–49.
- Popper, R.K. (1962). La lógica de la investigación científica. Ed. Tecnos, Madrid.

- Praveen, P., Ping, H.J.Y. & Chee, L.K. (2016). Tertiary wastewater treatment in membrane photobioreactor using microalgae: Comparison of forward osmosis & microfiltration. *Bioresource Technology*; 22, 448–457.
- Pulido, N. & Aguilera, O. (2004). La institucionalización de la ciencia en Venezuela. El caso de la Universidad de Los Andes (ULA), Mérida, XX. *Journal Fermentum. Revista Venezolana de Sociología y Antropología*; 14, 387–408.
- Pyke, G.H. (2005). A review of the biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*; 15, 339-365.
- Qadir, A. & Malik, R.N. (2011). Heavy metals in eight edible fish species from two polluted tributaries (Aik and Palkhu) of the river Chenab, Pakistan. *Biological Trace Element Research*; 143(3), 1524–1540.
- Rainbow, P.S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*; 31, 183–192.
- Rajeshkumar, S., Liu, Y., Zhang, X., Ravikumar, B., Bai, G. Li, X. (2017). Studies on seasonal pollution of heavy metals in water, sediment, fish and oyster from the Meiliang Bay of Taihu Lake in China. *Chemosphere*; 1–50.
- Ramírez, M.A.P., León, M.M.L. & Piñeiro, P.S. (2008). Metales pesados en trucha (*Micropterus salmoides floridanus*) de la presa Habanilla, Cuba. *Revista AquaTIC*; 29, 1–9.
- Ramos, C.S. (2009). Relación longitud-peso y factor de condición en el barrilete negro (*Euthynnus lineatus*, Kishinouye, 1920) (*Perciformes: Scombridae*), capturado en el litoral de Oaxaca, México. *Rev Invest Mar*; 30(1):45–53.
- Raudsepp-Hearne, C., Peterson, G. & Bennett, E. (2010). Ecosystem service bundles for analyzing tradeoffs in diverse landscapes. *Proceedings National Academy Science*; 107, 5242–5247.
- Raval, N.P., Shah, P.U. & Shah, N.K. (2016). Adsorptive removal of nickel (II) ions from aqueous environment: A review. *J Environ Manage*; 179, 1–20.
- Rawson, D.M. (1991). Bioprobes and biosensors. In: *Handbook of Ecotoxicology* (Calow, P. (ed). London: Blackwell, 428–437.

- Restrepo, J.B.N. (2014). Infección por el virus del Chikungunya. *Rev CES Med*; 28(2), 313–323.
- Reznick, D. (1990). Plasticity in age and size at maturity in male guppies (*Poecilia reticulata*): An experimental evaluation of alternative models of development. *J Evol Biol*; 3, 185–203.
- Ricart, M., Guasch, H., Barcelo, D., Brix, R., Conceicao, M.H. & *et al.* (2010). Primary and complex stressors in polluted Mediterranean rivers: pesticide effects on biological communities. *J Hydrol*; 383(1–2), 52–61.
- Richetti, S.K., Rosemberg, D.B., Ventura, L.J., Monserrat, J.M., Bogo, M.R. & Bonan, C.D. (2011). Acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of zebrafish brain is altered by heavy metal exposure. *NeuroToxicology*; 32, 116–122.
- Rodríguez, O., Peralta, H.J.M., Goonetilleke, A. & Bandala, R.E. (2017). Treatment Technologies for Emerging Contaminants in water: A review. *Chemical Engineering Journal*; 1–92.
- Rosenberg, D.M. & Pesh, W.H. (1993). Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. Chapman & Hall. New York; Pp 488.
- Rzyka, O., Strat, E. I. & Beijiang, R. (2014). Ecological risk and economic loss estimation of heavy metals pollution in the Beijiang river. *Ecol Chem Eng S*; 21(2), 189–199.
- Sadeghi, A. & Hedayati, A. (2014). Investigation of LC50, NOEC and LOEC of Glyphosate, Deltamethrin and Pretilachlor in Guppies (*Poecilia reticulata*). *Iranian Journal of Toxicology*; 8(26), 1124–1129.
- Sandifer, P.A., Sutton-Grier, A.E. & Ward, B.P. (2015). Exploring connections among nature, biodiversity, ecosystem services, and human health and well-being: opportunities to enhance health and biodiversity conservation. *Ecosystem Services*; 12, 1–15.
- Santillán, C.M., Toledo, I.G.A., Navidad, M.S.M.; Santillán, O.C., Martínez, C.L. & *et al.* (2016). Evaluación de acetilcolinesterasa en peces poecilidos como biomarcador de exposición a plaguicidas en el río San Pedro Mezquital, Nayarit. *Revista Bio Ciencias*; 3, 24.

- Santos, L., Gros, M., Rodríguez, M.S., Delerue, M.C., Pena, A., Barcelo, D. & Montenegro, M.C.B.S.M. (2013). Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Sci. Total Environ*; 302-316, 461–462.
- Sauliutė, G. & Svecevičius, G. (2015). Heavy metal interactions during accumulation via direct route in fish: a review. *Zoology Ecol.* 25, 77–86.
- Schöne, B.R. & Krause, R.A. (2016). Retrospective environmental biomonitoring – Mussel Watch expanded. *Glob Planet Change*; 144, 228–251.
- Science for Environmental Policy (2015). Ecosystem services and the environment. Indepth Report 11 Produced for the European Commission, DG Environment. Bristol, Science Communication Unit, UWE
- Sheykhi, F.V. (2016). MooreEnvironmental risk assessment of heavy metals pollution in aquatic ecosystem-a case study: sediment of Kor river. *Iran Hum Ecol Risk Assess*; 22, 899–910.
- Shortle, J. (2013). Economic and Environmental markets: Lessons from Water-quality trading. *Agricultural and Resource Economics Review*, 42, 57-74.
- Sigg, L., Black, F., Buffle, J., Cao, J., Cleven, R., Davidson, W. (2006). Comparasion of analytical techniques for dynamic trace metal speciation in natural freshwaters. *Environ Sci Technol*; 40, 1934–1941.
- Silveira, S.C.L. & Oliveira, F.E.C. (2013). Princípios de toxicología Ambiental. Ed. Interciência, Pp 216. Rio de Janeiro, Brasil.
- Sisinno, C.L. & Oliveira, F.E.C. (2013). Principios de Toxicología Ambiental. Ed. Interciência. Rio de Janeiro. Pp 216.
- Skalak, K., Benthem, A., Hupp, C., Schenk, E., Galloway, J. & Nustad, R. (2016). Hydrogeomorphology-ecology interactions in river systems. *River Res. Appl*; 22, 1085–1095.
- Sloof, J.E. (1993). Environmental Lichenology biomonitoring trace element air pollution. Delft University of technology.

- Smith, K.S., Balistrieri, L.S. & Todd, A.S. (2015). Using biotic ligand models to predict metal toxicity in mineralized systems. *Appl Geochem*; 57, 55–72.
- Srinivas, S. & Sutz, J. (2008). Developing Countries and Innovation: Searching for a New Analytical Approach. *Technology in Society*; 30, 129–140.
- Steffens, C., Klauck, C.R., Benvenuti, T., Silva, L.B. & Rodrigues, M.A.S. (2015). Water quality assessment of the Sinos River–RS, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*; 75(4), 62–67.
- Swartz, C. & *et al.* (2006). Steroid estrogens, nonylphenoethoxylate metabolites, and other wastewater contaminants in groundwater affected by a residential septic system on Cape Cod, MA. *Environmental Science and Technology*; 40, 4894–4902.
- Tang, J.Y.M., Busetti, F., Charrois, J.W.A. & Escher, B.I. (2014). Which chemicals drive biological effects in wastewater and recycled water?. *Water Res*; 60, 289–299.
- Tercier, W.M.L. & Taillefert, M. (2008). Remote in situ voltametric techniques to characterize the biogeochemical cycling of trace metals in aquatic systems. *J Environ Monitor*; 10, 30–50.
- Thomsen, M., Faber, J. & Sorensen, P. (2012). Soil ecosystem health and services - evaluation of ecological indicators susceptible to chemical stressors. *Ecol Indic*; 16, 67–75.
- Topal, A., Alak, G., Ozkaraca, M., Kokturk, M., Atamanalp, M., Alak, G. & *et al.* (2017). Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*; 1–23.
- Trenberth, E. (1999). Conceptual Framework for Changes of Extremes of the Hydrological Cycle with Climate Change. *Climatic Change*; 42, 327–339.
- Trujillo, J.P. & Toledo, B.H. (2004). Alimentación de los peces dulceacuícolas tropicales *Heterandria bimaculata* y *Poecilia sphenops* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Rev Biol Trop*; 55(2), 603–615.
- Tyagi, S., Sharma, B., Singh, P. & Dobhal, R. (2013). Water quality assessment in terms of water quality index. *American Journal of Water Resources*; 1, 34–38.

- Unesco. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. (2015). Water Supply, Sanitation and Health. Disponible en: <http://www.unesco.org/new/en/natural-sciences/environment/water/wwap/facts-andfigures/water-supply-sanitation-and-health>
- Väänänen, K., Kauppila, T., Mäkinen, J., Leppänen, M.T., Lyytikäinen, M. & Akkanen, J. (2016). Ecological risk assessment of boreal sediments affected by metal mining: metal geochemistry, seasonality, and comparison of several risk assessment methods. *Integr Environ Assess Manag*; 12(4), 759–771.
- Vargas, V.M. & Vargas, C. (2003). Male and mosquito larvae survey at the Arenal-Tempis irrigation project, Guanacaste, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*; 51, 759–762.
- Varol, M. & Şen, B. (2012). Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris river. *Turkey Catena*; 92, 1–10.
- Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*; 13(2), 57–149.
- Verdonschot, R., Oosten-Siedlecka, A.M., Braak, C.J. & Verdonschot, P.F. (2015). Macroinvertebrate survival during cessation of flow and streambed drying in a lowland stream. *Freshw Biol*, 60(2), 282–296.
- Vergara, T.C.A. Ortiz, M.D.C. (2016). Desarrollo sostenible: enfoques desde las ciencias económicas. *Apuntes del CENES*; 35(62), 15–52.
- Verhaar, H.J.M., Morroni, J.R., Reardon, K.F., Hays, S.M., Gaver Jr. & et al. (1997). A proposed approach to study the toxicology of complex mixtures of petroleum products: the integrated use of QSAR, lumping analysis and PBPK/PD modeling. *Environ Health Perspect*; 105(1), 179–195.
- Volk, M., Hirschfeld, J., Schmidt, G., Bohn, C., Dehnhardt, A. & et al. (2007). A SDSS-based ecological-economic modelling approach for integrated river basin management on different scale levels - The project FLUMAGIS. *Water Resources Management*; 21(12), 2049–2061.

- Wang, D., Wuo, F., Wu, y., Li, Z. & Wu, G. (2018). Technical, economic and environmental assessment of coagulation/filtration tertiary treatment processes in full-scale wastewater treatment plants. *Journal of Cleaner Production*; 170(1), 1185–1194.
- Wang, X. & Zang, S. (2014). Distribution characteristics and ecological risk assessment of toxic heavy metals and metalloid in surface water of lakes in Daqing Heilongjiang Province, China. *Ecotoxicology*; 23, 609–617.
- Wang, Z., Zhang, X., Huang, Y. & Wang, H. (2015). Comprehensive evaluation of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in typical highly urbanized regions across China. *Environ Pollut*; 204, 223–232.
- Watanabe, N. & *et al.* (2010). Use and environmental occurrence of antibiotics in freestall dairy farms with manure forage fields. *Environmental Science and Technology*; 44, 6591–6600.
- Werner, I. & Hitzfeld, B. (2012). 50 years of ecotoxicology since Silent Spring – A review. *Gaia*; 3, 217–225.
- West, D.W., Ling, N., Hicks, B.J., Tremblay, L.A., Kim, N.D. & Van den Heuvel, M.R. (2006). Accumulative impacts assessment along a large river, using brown bullhead catfish (*Ameiurus nebulosus*) populations. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 25, 1868–1880.
- Wu, R. S. S., T. C. Lau, W. K. M. Fung, P. H. Ko, & Y. Leung. (2007). An artificial mussel for monitoring heavy metals in marine environments. *Environmental Pollution*; 145, 104–110.
- Xu, F., Li, Y., Wang, Y., He, W., Kong, X. & *et al.* (2015). Key issues for the development and application of the species sensitivity distribution (SSD) model for ecological risk assessment. *Ecol Indic*; 54, 227–237.
- Yan, Z., Wang, W., Zhou, J., Yi, X., Zhang, J. & *et al.* (2015). Screening of high phytotoxicity priority pollutants and their ecological risk assessment in China's Surface waters. *Chemosphere*; 128, 28–35.

- Yi, Y.J. & Zhang, S.H. (2012). The relationships between fish heavy metal concentrations and fish size in the upper and middle reach of Yangze river. *Procedia Environmental Science*; 13, 1699–1707.
- Zalewski, M. (2015). Process oriented thinking as a key for integration of ecohydrology, biotechnology and engineering for sustainable wáter resources management and ecosystems. Hydrological sciences and water security: past, present and future. In: *Proceedings of the International Association of Hydrological Sciences*, 366.
- Zenker, A., Cicero, M.R., Prestinaci, F., Bottoni, P. & Carere, M. (2014). Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *J. Environ Manag*; 133, 378–387.
- Zenobio, J.E., Sanchez, B.C., Leet, J.K., Archuleta, L.C. & Sepúlveda, M.S. (2015). Presence and effects of pharmaceutical and personal care products on the Baca National Wildlife Refuge, Colorado. *Chemosphere*; 120, 750–755.
- Zhang, G., Bai, J., Xiao, R., Zhao, Q., Jia, J. & *et al.* (2017a). Heavy metal fractions and ecological risk assessment in sediments from urban, rural and reclamation-affected rivers of the Pearl River Estuary, China. *Chemosphere*; 184, 278–288.
- Zhang, A., Wang, G., Gong, G. & Shen, J. (2017b). Immobilization of white rot fungi to carbohydrate-rich corn cob as a basis for tertiary treatment of secondarily treated pulp and paper mill wastewater. *Industrial Crops and Products*; 19(15), 538–541.
- Zhang, W., Liu, Y., Xu, Y. & Xu, H. (2015). Insights into assessing environmental quality status using potential surrogates of biofilm-dwelling ciliate fauna in coastal waters. *Environ Sci Pollut Res*; 22, 1389–1398.
- Zhang, X., Zwiers, F., Hegerl, G., Lambert, F., Gillett, N. *et al.* (2007). Detection of human influence on twentieth century precipitation trends. *Nature*; 448, 461–465.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J. & Jiang, G. (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*; 606, 35–150.
- Zuykov, M., Pelletier, E. & Harper, D.A.T. (2013). Bivalve mollusks in metal pollution studies: from bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere*; 93, 201–208.



ANEXOS

Anexo 1. Norma Cubana: NC. 827-2010. Agua Potable – Requisitos Sanitarios.

NORMA CUBANA		NC
Obligatoria		827: 2010
AGUA POTABLE — REQUISITOS SANITARIOS		
Tipo	Característica	LMA
Físicas	Olor y sabor	Inodora y sabor agradable característico
	Turbiedad	5 UNT
	Color real	15 UC
Químicas	pH	6,5 – 8,5
	Sólidos totales disueltos	1 000 mg/L
	Dureza total (como carbonato de calcio)	400 mg/L
	Cloruros	250 mg/L
	Sustancias activas al azul de metileno	0,5 mg/L
	Compuestos fenólicos (referidos al fenol)	0,002 mg/L
	Aluminio	0,2 mg/L
	Cobre	2,0 mg/L
	Hierro	0,3 mg/L
	Sodio	200 mg/L
	Sulfatos	400 mg/L
Zinc	5 mg/L	

Componentes	LMA (mg/L)
Amoniaco	No presencia
Arsénico	0,05
Cadmio	0,005
Cianuro	0,07
Cloro libre	2,0
Cromo total	0,05
Fluoruro	1,5
Manganeso	0,4
Mercurio total	0,001
Níquel	0,02
Nitrato	45
Nitrito	0,2
Plomo	0,05
Selenio	0,01

Anexo 2. NC. 93–1986. Fuente de abastecimiento de agua. Calidad y protección sanitaria.

NC 93-11/86	
HIGIENE COMUNAL	
FUENTES DE ABASTECIMIENTO DE AGUA	
CALIDAD Y PROTECCION SANITARIA	
CARACTERISTICAS	LIMITE MAXIMO
pH	De 6 a 9
Temperatura (°C)	Condiciones normales más 2,5 °C
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅ a 20 °C)	4 mg/L
Oxígeno disuelto (OD)	4 mg/L (limite mínimo)
Turbiedad (escala sílice)	Reducible por métodos convencionales de tratamiento hasta obtener un máximo de 10 U
Color (escala platino cobalto)	Reducible por métodos convencionales de tratamiento hasta obtener un máximo de 15 U
Olor y sabor	Reducible por métodos convencionales de tratamiento hasta que no sean desagradables.
Aceites y grasas	0,3 mg/L
Sólidos totales disueltos	1000 mg/L

Anexo 3. Selección de muestra biológica: muestreo poblacional (superior-izquierda), medición de los ejemplares (superior-derecha), extracción de órganos diana (inferior izquierda), verificación del órgano diana (inferir-derecha).



Anexo 4. Resultados de laboratorio.**INFORME TÉCNICO N° 001-2018/FP**

Nombre del cliente : Centro de Investigaciones Avanzadas "AMTAWI"
 Dirección : Jr. Paz Soldán 123, Puno
 Solicitado por : George Argota Pérez. Estudiante del Programa de
 Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.
 Escuela de Posgrado – Universidad Nacional del Altiplano
 Proyecto : Tesis de Doctorado
 Muestreo por : Centro de Investigaciones Avanzadas "AMTAWI"
 Muestra : 10 (5 por cada estación)
 Tipo de muestra : agua de río, sedimentos

*** Las muestras se recepcionaron en condiciones óptimas de conservación analítica**

I. Resultados analíticos

Código del cliente	DT	pH	ST	OD	DBO ₅
ArP1-L	240 ±0,42	7,2	540,10 ±7,42	4,7 ±0,2	28,4 ±2,3
ArP2-L	220 ±0,44	7,4	556,36 ±5,31	5,0 ±0,2	22,1 ±1,7
ArP3-L	242 ±0,41	6,9	550,30 ±6,18	5,1 ±0,3	33,7 ±2,6
ArP4-L	240 ±0,42	7,1	548,66 ±4,34	5,1 ±0,3	34,8 ±1,9
ArP5-L	240 ±0,42	6,9	544,20 ±5,21	5,2 ±0,2	30,2 ±2,4
ArP1-E	280 ±0,36	6,7	550,30 ±4,28	4,7 ±0,2	42,2 ±2,8
ArP1-E	260 ±0,38	6,9	567,44 ±6,17	4,9 ±0,1	39,3 ±2,1
ArP1-E	260 ±0,38	7,1	560,33 ±5,33	4,6 ±0,2	35,8 ±1,2
ArP1-E	260 ±0,38	6,8	556,24 ±6,64	4,5 ±0,2	39,6 ±1,5
ArP1-E	240 ±0,42	6,9	554,66 ±4,55	4,8 ±0,2	40,4 ±2,4

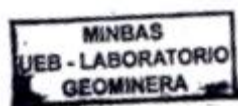
Código del cliente	Cu	Zn	Pb	Cd
AgP1-L	11,24 ±1,28	23,12 ±3,22	0,11 ±0,06	0,007 ±0,001
AgP2-L	16,3 ±1,11	26,3 ±2,19	0,14 ±0,04	0,12 ±0,002
AgP3-L	10,38 ±1,26	17,34 ±2,31	0,11 ±0,03	0,006 ±0,001
AgP4-L	16,27 ±2,21	26,61 ±2,11	0,16 ±0,05	0,14 ±0,002
AgP5-L	13,58 ±1,05	23,44 ±2,17	0,11 ±0,03	0,008 ±0,002
SedP1-E	1,39 ±0,71	4,13 ±1,81	0,07 ±0,02	0,004 ±0,001
SedP1-E	1,4 ±0,39	6,2 ±2,33	0,08 ±0,02	0,03 ±0,002
SedP1-E	1,55 ±0,25	5,28 ±1,89	0,07 ±0,01	0,006 ±0,001
SedP1-E	1,72 ±0,19	7,04 ±2,17	0,07 ±0,02	0,08 ±0,02
SedP1-E	1,33 ±0,52	6,59 ±2,32	0,06 ±0,02	0,006 ±0,002

II. Métodos y referencias

Tipo de ensayo	Norma de referencia	Nomenclatura
Físico-químico		
DT	Standard Methods, 1998: 3500-Ca CALCIUM. 3500-Ca B.	EDTA Titrimetric Method. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 20th Edition. USA
pH	EPA Method 150.1, ed. 1982	pH in Water by Electrometric Method. Official Name: pH, Electrometric Method
ST	ISO 5667-3 (1994) Calidad del Agua – Muestreo – Parte 3.	Guía para la preservación y manipulación de muestras
Oxígeno disuelto	SM 4500-O C, 23 ed. 2017	Azide modification
DBO ₅	SM 5220 D, 22 Ed, 2012	Chemical Oxygen Demand, Clorimetric Method
ICP-AES		
Plomo	EPA Method 200.7, rev 4.4, 1994; EPA Method 3050-B, rev 02, 1996	Determination of metals trace elements in water by inductively couple plasma- atomic emission spectrometry
Cadmio		
Cobre		
Zinc		


III. Observación

- Los resultados se realizaron considerando la colaboración técnica a la formación profesional (análisis de cortesía)



Humberto Argota Coello
Especialista Superior - Análisis Instrumental

Anexo 5. Guía de Calidad Ambiental Canadiense: CEQG (2001).







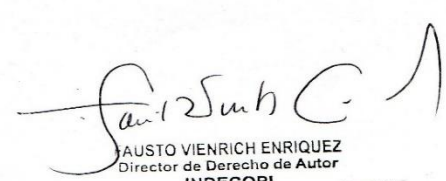
**Canadian Sediment Quality
Guidelines for the Protection
of Aquatic Life**

**SUMMARY
TABLES**

Table 1. Interim freshwater sediment quality guidelines (ISQGs; dry weight), probable effect levels (PELs; dry weight), and incidence (%) of adverse biological effects in concentration ranges defined by these values.*

Substance	ISQG	PEL	% ≤ ISQG	ISQG < % < PEL	% ≥ PEL
Copper	35.7 mg·kg ⁻¹	197 mg·kg ⁻¹	4	38	44
Zinc	123 mg·kg ⁻¹	315 mg·kg ⁻¹	5	32	36
Lead	35.0 mg·kg ⁻¹	91.3 mg·kg ⁻¹	5	23	42
Cadmium	0.6 mg·kg ⁻¹	3.5 mg·kg ⁻¹	11	12	47

Anexo 6. Modelo computacional Gecotoxic se encuentra registrado por el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI) con No. Partida Registral: 01025-2019.

  Presidencia del Consejo de Ministros			Nro. Partida Registral: 01025- 2019 Asiento: 01 Fecha Presentación: 2019-03-08 Fecha de Inscripción: 2019-07-26 No. de Expediente : 000616-2019
DIRECCIÓN DE DERECHO DE AUTOR CERTIFICADO DE REGISTRO DE PROGRAMAS DE ORDENADOR (SOFTWARE)			
DATOS DE LA OBRA Título : GECOTOXIC INEDITA Tipo de Obra : ORIGINARIA, Pais de Origen :			
DATOS DEL AUTOR O AUTORES Apellidos y Nombres : ARGOTA PEREZ, GEORGE Doc. de Identidad 001125421 Pais de Nacimiento : CUBA Domicilio : JR. PAZ SOLDAN N° 123, PUNO, PUNO. PUNO Fecha de Nacimiento : 1974-06-06 Apellidos y Nombres : CARBONELL MARCE, ALBERTO Doc. de Identidad 87040633468 Pais de Nacimiento : CUBA Domicilio : CARLOS CALLE A N° 17 ENTRE 5TA Y 10, REPARTO 30 DE NOVIEMBRE, MUNICIPIO SANTIAGO DE CUBA, SANTIAGO DE CUBA, CUBA, Apellidos y Nombres : RODRIGUEZ ALIZAR, MIGUEL Doc. de Identidad 89061342745 Pais de Nacimiento : CUBA Domicilio : ANGEL GENERAL MINJET N° 20, ENTRE 5TA Y 10, REPARTO 30 DE NOVIEMBRE, MUNICIPIO DE SANTIAGO DE CUBA, SANTIAGO DE CUBA, CUBA,			
DATOS DEL PRODUCTOR Apellidos y Nombres : ARGOTA PEREZ, GEORGE Domicilio : JR. PAZ SOLDAN N° 123, PUNO, PUNO. PUNO			
DATOS DEL TITULAR O TITULARES Apellidos y Nombres : ARGOTA PEREZ, GEORGE Doc. de Identidad 001125421 Pais de Nacimiento : CUBA Domicilio : JR. PAZ SOLDAN N° 123, PUNO, PUNO. PUNO			
OBSERVACIONES : NINGUNA.			
 DANIEL LAZO BARRETO Dirección de Derecho de Autor INDECOPI		 FAUSTO VIENRICH ENRIQUEZ Director de Derecho de Autor INDECOPI	
El derecho de autor protege exclusivamente la forma original y creativa, mediante la cual las ideas del autor son descritas, explicadas, ilustradas o incorporadas a las obras. No son objeto de protección las ideas contenidas en las obras literarias y artísticas, o el contenido ideológico o técnico de las obras científicas, ni su aprovechamiento industrial o comercial (artículos 8° y 9° del Decreto Legislativo Nro. 822.)			
INSTITUTO NACIONAL DE DEFENSA DE LA-COMPETENCIA Y DE LA PROTECCIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL Calle De la Prosa 104, San Borja, Lima 41 - Perú / Telf.: 224 7800			

Anexo 7. Análisis de la varianza / parámetros físico-químicos / periodo de lluvia.

DT					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Coefficiente-F	Valor-P
Entre grupos	7594,8	9	843,867	843,87	0,00
Intra rupos	20,0	20	1,0		
Total (corr.)	7614,8	29			
pH					
Entre grupos	1,148	9	0,127556	13,67	0,00
Intra rupos	0,186667	20	0,00933333		
Total (corr.)	1,33467	29			
ST					
Entre grupos	1691,56	9	187,951	1879506,97	0,00
Intra rupos	0,002	20	0,0001		
Total (corr.)	1691,56	29			
OD					
Entre grupos	1,392	9	0,154667	15,47	0,00
Intra rupos	0,2	20	0,01		
Total (corr.)	1,592	29			
DBO ₅					
Entre grupos	1064,42	9	118,268	11826,83	0,00
Intra rupos	0,2	20	0,01		
Total (corr.)	1064,62	29			

- Entre grupos (k-1): 10-1
- Intra grupos (n-k): 30-10

Anexo 8. Magnitud del valor de daño.

- Magnitud trivial: cambios o manifestaciones ajenas que no son invalidantes para la vida de los organismos.
- Magnitud leve: daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos no sistémicos.
- Magnitud moderada: daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos que conducen a una o determinadas pérdidas donde comienza a comprometerse la vida de los organismos.
- Magnitud severa: daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos que son ya invalidantes y donde comienza acortarse la vida de los organismos.
- Magnitud extrema: daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos que son incompatibles con la vida y donde existe una muerte esperada de los organismos.