



Revista de Toxicología  
ISSN: 0212-7113  
ISSN: 1697-0748  
revista@aetox.es  
Asociación Española de Toxicología  
España

## Toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Parachaeiroduon innesi* neon tetra (Characidae)

Tomaila, J; Iannacone, J

Toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Parachaeiroduon innesi* neon tetra (Characidae)

Revista de Toxicología, vol. 35, núm. 2, 2018

Asociación Española de Toxicología, España

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91960137004>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional.

# Toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Parachaeirodon innesi* neon tetra (Characidae)

Lethal and sublethal toxicity of arsenic, cadmium, mercury and lead on fish *Paracheirodon innesi* neon tetra (Characidae)

J Tomaila jvtomaila@gmail.com  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú  
J Iannacone  
Universidad Nacional Federico Villarreal, Perú

Revista de Toxicología, vol. 35, núm. 2, 2018

Asociación Española de Toxicología, España

Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91960137004>

**Resumen:** La contaminación ambiental es un problema global, siendo los metales pesados los de mayor importancia; como, por ejemplo, arsénico, cadmio, mercurio y plomo. El objetivo del estudio fue evaluar la toxicidad estos cuatro metales sobre el pez *Paracheirodon innesi*. Para esto se realizaron bioensayos estáticos en laboratorio empleando individuos juveniles y como agentes tóxicos: arseniato de sodio, cloruro de cadmio, cloruro de mercurio y nitrato de plomo. Se determinó la concentración letal media (CL50) y la concentración efectiva media (CE50) para dos efectos subletales (nado extraño y movimiento opercular acelerado) con los programas TRAP y Excel Probit; así como la Concentración sin Efecto Pronosticada (PNEC). Los valores de CL50 y CE50 disminuyeron de manera casi continua de 24 h a 96 h para los distintos metales. El grado de toxicidad, en orden descendente, fue: mercurio > cadmio > arsénico > plomo. Los valores de CE/L50 de TRAP fueron ligeramente mayores a los de Excel Probit. La CL50-96h de estos metales fue 0,129; 23,1; 60,3 y 278 mg.L-1 para Excel Probit y 0,137; 29,4; 65,5 y 282 mg.L-1 para TRAP; respectivamente. Al comparar los valores de PNEC estimados para los cuatro metales de interés con el Estándar de Calidad Ambiental Peruano de la Categoría 4 para ríos de selva (ECA Cat 4 - E2 ríos selva), se puede indicar que la concentración límite del ECA para arsénico no es apropiada y su cumplimiento no aseguraría la conservación del medio acuático.

**Palabras clave:** bioensayo, concentración efectiva media, concentración letal media, toxicidad, *Parachaeirodon innesi*.

**Abstract:** Environmental pollution is a global issue, being heavy metals the most important; such as, arsenic, cadmium, mercury and lead. The study object was to evaluate these four metals on fish *Paracheirodon innesi*. To meet the goal static bioassays were carried out at laboratory, using juveniles and as toxic agents: sodium arsenate, cadmium chloride, mercury chloride and lead nitrate, with high purity. There were determined the median lethal concentration (LC50) and the median effective concentration (EC50) for two sublethal effects (strange swimming and accelerated opercula movement); as well as the Predicted No Effect Concentration (PNEC). LC50 and EC50 values decreased continuously from 24 to 96 h for all metals. The four evaluated metals showed the next toxicity ranking: mercury > cadmium > arsenic > lead. TRAP's L/EC50 values were slightly higher than Excel Probit's values. LC50#96h for these metals were 0.129; 23.1; 60.3 and 278 mg.L-1 for Excel Probit and 0.137; 29.4; 65.5 y 282 mg.L-1 for TRAP, respectively. When comparing PNEC's estimated values for the four metals of interest with Peruvian Environmental Quality Standard of Category 4 for jungle rivers (EQS Cat 4 - E2 jungle rivers), it can be indicated that ECA's limit concentration to arsenic is inappropriate and its compliance would not ensure aquatic environment conservation.

**Keywords:** toxicity, media lethal concentration, media effective concentration, bioassay, *Parachaeirodon innesi*.

## Introducción

La contaminación ambiental es un problema mundial, donde la mayoría de los contaminantes de mayor relevancia en los sistemas acuáticos son los metales pesados, debido a su toxicidad y acumulación en los organismos y a la biomagnificación a través de la cadena trófica (Shafaqat et al., 2014). Los metales pesados, como por ejemplo, arsénico, cadmio, mercurio y plomo, son considerados los más tóxicos a las especies animales y ambiente (Pandey y Madhuri, 2014). Estos producen efectos biológicos adversos en los organismos, siendo estos letales o subletales (Pandey y Madhuri, 2014). Los efectos tóxicos de los metales pesados se manifiestan afectando la tasa de crecimiento, funciones fisiológicas, reproducción y mortalidad en peces. Los metales pueden ingresar a los peces mediante tres vías: branquias, tracto digestivo y superficie de la piel. Las agallas son la vía a través de la cual se produce la mayor tasa de ingreso de los metales desde el agua y la superficie de la piel representa el menor porcentaje (Shafaqat et al., 2014).

El arsénico afecta los parámetros hematológicos, bioquímicos e ionoregulatorios de los organismos (Kumari et al., 2016). Exposiciones continuas de organismos acuáticos, incluyendo peces, a bajas concentraciones de este metal ha dado como resultado la bioacumulación, estando focalizada en hígado y riñón en los peces. Las actividades antrópicas han contribuido a que se incremente su presencia en el ambiente. El cadmio produce efectos similares en los peces y en los humanos, los cuales incluyen deformaciones del sistema esquelético y daño en el funcionamiento del riñón en peces. Este metal es más tóxico en agua dulce, ya que en agua salada forma compuestos que son menos biodisponibles para los organismos (Bradl, 2005). El mercurio en los peces, cuando existe una toxicidad aguda se manifiesta en el deterioro del recubrimiento de las branquias, incremento del movimiento respiratorio, pérdida de equilibrio e inactividad seguida finalmente por la muerte. Exposiciones prolongadas (toxicidad crónica) se manifiestan en detrimento de la reproducción, crecimiento, comportamiento, metabolismo e intercambio de oxígeno (Zakaria et al., 2016). El plomo, a través de una toxicidad aguda, genera en los peces efectos hematológicos y neurológicos. En el primer caso, involucran una mortalidad temprana de células rojas maduras de la sangre. En el segundo caso, estos incluyen un deterioro del comportamiento del aprendizaje, oscurecimiento de la región caudal y eventualmente curvaturas espinales (Martínez et al., 2004).

*Paracheiroidon innesi* (Myers 1936), pertenece a la familia Characidae y al orden Characiformes, conocida comúnmente como neón tetra, es una de las especies más valiosas en el comercio de peces ornamentales (Sanaye et al., 2012), por su carácter pacífico, su color llamativo y su desplazamiento en cardúmenes que resaltan la vida dentro de los acuarios (Palacios et al., 2015). La mayoría de los peces de esta especie, disponibles para la venta son importados del sudeste asiático, donde son criados en

granja de peces, o de Sudamérica, donde son capturados del medio natural (Kucharczyk et al., 2010).

De acuerdo a la revisión de literatura disponible, ha sido empleada para estudios ecotoxicológicos únicamente en Perú hasta la fecha, con algunas sustancias tales como: el plaguicida carbofurano (Iannacone et al., 2011); el insecticida carbámico cartap, (Iannacone et al., 2007a); y del insecticida metamidofos (Iannacone et al., 2007b). También ha sido evaluada frente al insecticida botánico Hura crepitans (Iannacone et al., 2014), y para evaluar la toxicidad de una laguna impactada por hidrocarburos (Iannacone et al., 2009). No obstante, no se cuenta con estudios donde esta especie haya sido expuesta previamente a metales pesados.

La finalidad del estudio fue evaluar la toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez neón tetra *P. innesi*, y su posible uso como indicador biológico.

## Material y métodos

Para las distintas actividades, tanto de laboratorio como de gabinete, se tomaron en cuenta los lineamientos y recomendaciones de United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2016), The Organization for Economic Cooperation and Development (OECD, 2014) y Iannacone et al. (2007a), entre otros.

### *Preparación de ensayos*

El estudio fue realizado en el Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA) de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV) en la ciudad de Lima, Perú.

### *Químicos*

Los cuatro metales de interés fueron evaluados a través de sales comerciales. De esta manera, se usó el arseniato de sodio/ $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (312,01 g) (98%, MallinckrodtE®) para evaluar el arsénico, el cloruro de cadmio/ $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (80%, MallinckrodtE®) para el cadmio, el cloruro de mercurio/ $\text{HgCl}_2$  (99%, Merck®) para el mercurio y el nitrato de plomo/ $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (99%, Erba®) para el plomo.

### *Peces*

Los peces fueron capturados de su medio natural, y almacenados en peceras con agua de sus quebradas en Iquitos, Perú, por al menos dos semanas, para luego ser transportados vía aérea a la ciudad de Lima, proceso que toma entre 8 y 12 h. En Lima, los neones pasan por un periodo de aislamiento de al menos otras dos semanas, para evitar la propagación de alguna enfermedad contraída en su medio natural. En

este tiempo, los peces fueron almacenados en peceras cicladas, con filtros cascada y calentadores (22-25° C). Además, durante este periodo, con una frecuencia de tres días, se realizan cambios parciales del 30% del volumen de las peceras empleando agua de osmosis inversa (baja en sales/iones), para que los peces se aclimaten de manera gradual a condiciones distintas a las de su medio natural.

Luego de adquirirse los neones tetra, fueron transportados en grupos de 300 individuos dentro de bolsas plásticas gruesas de 10 L de capacidad, con agua de osmosis inversa oxigenada, hasta el laboratorio. El tiempo de transporte no fue mayor a una hora en cada evento. En el laboratorio, a las bolsas plásticas con peces, se les agregó 500 mL del agua de la pecera ciclada de manera gradual cada 15 min durante dos horas, con el objetivo de preparar a los peces a las condiciones de la pecera del laboratorio. Se depositó un número máximo de 450 peces por pecera (~150 L). Estos se mantuvieron en el laboratorio por un periodo mínimo de dos semanas antes de ser usados en los ensayos, a una temperatura promedio del agua de 22° C, expuestos a un fotoperiodo de 12h de luz y 12h de oscuridad, y alimentados cada día con Nutrafin Max®.

### *Ensayos*

Se realizaron ensayos preliminares. Las concentraciones variaron de 0,98 a 500 mg.L<sup>-1</sup> para arsénico, de 0,004 a 2 mg.L<sup>-1</sup> para mercurio, de 1,95 a 1000 mg.L<sup>-1</sup> para cadmio y de 3,91 a 2000 mg.L<sup>-1</sup> para plomo. Las condiciones fueron: número de soluciones (10) y repeticiones (3) por metal, volumen (500 mL) y número de peces (5) por solución, duración (96 h) y evaluación (cada 24 h) del efecto letal (muerte). Siendo similares a los ensayos definitivos, los cuales son descritos en mayor detalle a continuación.

Para los ensayos definitivos se consideraron cinco concentraciones diferentes por metal, que disminuyeron progresivamente aplicando un factor de dilución. Se incluyó una solución control por metal. Se consideraron cuatro repeticiones por concentración y metal. La solución de cada concentración fue de 1 L, donde se colocaron aleatoriamente 10 peces por solución. El rango de concentraciones y el factor de dilución (FD) para cada metal varió de acuerdo a los datos obtenidos en los ensayos exploratorios. Para el arsénico se usó un FD de 0,6 con concentraciones entre y 16,2 y 125 mg.L<sup>-1</sup>, para el cadmio se empleó un FD de 0,35 con valores de 1,9 a 125 mg.L<sup>-1</sup>, para el mercurio el FD fue de 0,4 con valores de 0,013 a 0,5 mg.L<sup>-1</sup>, y para el plomo se usó un FD de 0,7 con valores de 120 a 500 mg.L<sup>-1</sup>. Al finalizar los ensayos, se esperaba que, de las cinco concentraciones contempladas por metal, una afectara la totalidad de los peces, tres tuvieran afecciones parciales y otra no afectara ningún pez expuesto. Sin embargo, esto se cumplió solo para el cadmio, por lo que, se evaluaron soluciones de concentraciones complementarias para los otros tres metales, con valores entre las establecidas inicialmente. En el caso del arsénico se añadió 100 mg.L<sup>-1</sup>, para mercurio 0,16 mg.L<sup>-1</sup> y para el plomo se adicionaron 315 mg.L<sup>-1</sup> y 280 mg.L<sup>-1</sup>.

La duración de los ensayos fue de 96 h. Con la ayuda de un estilete y con una frecuencia de 24 h, se evaluaron tres efectos: uno letal y dos subletales. Se consideró efecto letal (muerte) si al tocar el pez por 10 segundos no se observaba movimiento alguno. Los efectos subletales fueron: i) nado extraño, si el pez realizaba movimientos anómalos como desplazarse lentamente solo en la superficie o de manera diagonal; y ii) movimiento opercular, si el pez presentaba movimiento escaso del cuerpo y con una marca aceleración al respirar. Los individuos muertos fueron retirados al finalizar la lectura diaria para que su descomposición no genere efectos adversos sobre el resto. Adicionalmente a las lecturas de los efectos de los metales, se tomó nota de la conductividad y potencial de hidrógeno al iniciar y finalizar los ensayos, y se midieron y pesaron los peces.

## Procesamiento y Análisis de datos

### *Métodos para evaluar la relación dosis respuesta*

#### Concentración letal y efectiva media (CL/CE50)

La CL/CE50 fue calculada mediante el uso del programa Toxicity Relationship Analysis Program (TRAP) versión 1.30a de la United State Environmental Protection Agency (USEPA, 2015) y a través de la función Probit contenida en una plantilla del programa Excel 2016 provista por Alpha (2017) para uso libre y disponible en la web.

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

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

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

Inicialmente se aplica el ANDEVA de una vía, ya que solo se evalúa la variable concentración, para verificar si existen diferencias significativas entre las mortalidades medias de las distintas empleadas, incluyendo la muestra control. Si los resultados confirman lo planteado, se prosigue con la prueba de Tukey para identificar las concentraciones con mortalidades medias que no fueron significativamente distintas a las de la muestra control. Finalmente, en base a esos resultados, se identifican el NOEC y LOEC.

#### Concentración sin efecto pronosticada (PNEC)

Se evaluó el riesgo ambiental de los metales sobre la biota del medio acuático continental, usando a la especie *P. innesi*, a través de la estimación del PNEC para cada uno de ellos, mediante la siguiente fórmula:  $PNEC = CL_{50}/96h / \text{factor de seguridad}$ . Se consideró un factor de seguridad de 1000, como lo recomienda la OECD (2011) cuando se cuenta con información de un solo nivel trófico del medio acuático. Los PNEC

obtenidos para el efecto letal a las 96 h fueron comparados con los valores del Estándar de Calidad Ambiental (ECA) para Agua de la Categoría 4: Conservación del Ambiente Acuático, Subcategoría E2: Ríos de Selva; para arsénico (0,15 mg.L-1), cadmio (0,00025 mg.L-1), mercurio (0,0001 mg.L-1) y plomo (0,0025 mg.L-1); aprobados mediante el Decreto Supremo (D.S.) N° 004 2017 MINAM, el 7 de junio del 2017.

#### Biometría de Peces

Se evaluó la diferencia de las longitudes totales (mm) y pesos húmedos (mg) promedio, de los individuos empleados entre las concentraciones evaluadas para cada metal, a través del ANDEVA con el uso del programa Info Stat. También se analizó la diferencia de los promedios de ambos parámetros biométricos, entre los distintos metales. Esto con la finalidad de identificar alguna posible influencia de la variación de las longitudes y pesos sobre los resultados obtenidos.

#### Parámetros Fisicoquímicos

Fueron evaluados los valores de pH y conductividad registrados al inicio (0 h) y al final de los ensayos (96 h), para cada concentración de los distintos metales; así como la relación entre los valores de cada uno de los dos parámetros con las concentraciones de cada metal, mediante la determinación del coeficiente de correlación de Pearson (r). Luego se evaluó la significancia del coeficiente mediante la prueba de t student. El coeficiente de Pearson y la prueba de t student fueron calculados con el uso del programa Info Stat.

## **Resultados**

Las longitudes y pesos de los peces empleados para los ensayos no presentaron diferencias significativas entre las concentraciones evaluadas para cada metal, así como tampoco entre los metales, ya que los valores de p fueron mayores a 0,05 en todos los casos (Tabla 1). Respecto a los parámetros fisicoquímicos, al iniciar y finalizar el ensayo; los valores de pH mostraron distintas correlaciones con las concentraciones de los metales: positiva con las de arsénico, negativa con las de cadmio y plomo, y ninguna correlación con las de mercurio; mientras que para la conductividad hubo una correlación positiva con los cuatro metales (Tabla 2).

**Tabla 1**  
 Datos de longitud (mm) y peso (mg) de los individuos de *Parachanna innesi* empleados en los ensayos definitivos con arsénico, cadmio, mercurio y plomo.

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

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

**Tabla 2**  
Valores de pH y conductividad registrados en los ensayos definitivos con *Paracheirodon innesi* con arsénico, cadmio, mercurio y plomo.

| Metal    | mg L <sup>-1</sup> | pH      |        | Conductividad |         |
|----------|--------------------|---------|--------|---------------|---------|
|          |                    | 0 h     | 96 h   | 0 h           | 96 h    |
| Arsénico | Control            | 7,78    | 7,82   | 508           | 517     |
|          | 16,2               | 7,66    | 7,63   | 541           | 558     |
|          | 27                 | 7,89    | 7,71   | 562           | 575     |
|          | 45                 | 7,96    | 7,82   | 590           | 607     |
|          | 75                 | 8,20    | 7,83   | 640           | 665     |
|          | 100                | 8,25    | 8,11   | 685           | 705     |
|          | 125                | 8,31    | 8,18   | 730           | 763     |
|          | p                  | 0,001   | 0,010  | <0,0001       | <0,0001 |
| Cadmio   | Pearson (r)        | 0,95    | 0,88   | 1,00          | 1,00    |
|          | Control            | 7,76    | 7,89   | 494           | 523     |
|          | 1,9                | 7,97    | 7,74   | 518           | 526     |
|          | 5,4                | 7,79    | 7,69   | 521           | 537     |
|          | 15,3               | 7,65    | 7,53   | 526           | 530     |
|          | 43,8               | 7,43    | 7,48   | 552           | 564     |
|          | 125                | 7,04    | 7,21   | 630           | 612     |
|          | p                  | 0,002   | 0,01   | 0,0003        | 0,0003  |
| Mercurio | Pearson (r)        | -0,96   | -0,91  | 0,99          | 0,99    |
|          | Control            | 7,76    | 7,82   | 494           | 498     |
|          | 0,013              | 7,73    | 7,62   | 497           | 495     |
|          | 0,032              | 7,97    | 7,61   | 497           | 499     |
|          | 0,080              | 8,00    | 7,59   | 498           | 501     |
|          | 0,160              | 7,89    | 7,74   | 512           | 509     |
|          | 0,200              | 8,01    | 7,65   | 514           | 524     |
|          | 0,500              | 7,97    | 7,70   | 515           | 528     |
| Plomo    | p                  | 0,26    | 0,85   | 0,020         | 0,005   |
|          | Pearson (r)        | 0,49    | 0,09   | 0,83          | 0,90    |
|          | Control            | 7,78    | 7,81   | 508           | 518     |
|          | 120                | 6,98    | 7,58   | 547           | 549     |
|          | 172                | 6,76    | 7,55   | 555           | 558     |
|          | 245                | 6,41    | 7,45   | 564           | 579     |
|          | 280                | 6,23    | 6,58   | 586           | 595     |
|          | 315                | 6,05    | 5,81   | 602           | 603     |
|          | 350                | 5,92    | 6,56   | 620           | 617     |
|          | 500                | 5,52    | 6,17   | 682           | 679     |
|          | p-valor            | <0,0001 | 0,0107 | <0,0001       | <0,0001 |
|          | Pearson (r)        | -0,98   | -0,83  | 0,98          | 0,99    |

### Ensayos

En los ensayos preliminares se observó una tendencia de mortalidad similar para los cuatro metales a las 96 h, siendo nula en las concentraciones más bajas, parcial en las intermedias y total en las más altas; a excepción del plomo, donde solo se obtuvieron mortalidades nulas y totales (Tabla 3).

**Tabla 3**  
Mortalidad de *Paracheirodon innesi* por arsénico, cadmio, mercurio y plomo en ensayos preliminares. Factor de dilución de 0,5.

| Concentración<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | Nº de peces para<br>prueba | Evaluación (h) de mortalidad (%) |     |     |     |
|----------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|-----|-----|-----|
|                                        |                            | 24                               | 48  | 72  | 96  |
| 0                                      | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 0,98                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 1,95                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 3,91                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 7,81                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 15,63                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 31,25                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 62,5                                   | 5                          | -                                | 20  | 40  | 60  |
| 125                                    | 5                          | 60                               | 100 | 100 | 100 |
| 250                                    | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 500                                    | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 0                                      | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 1,95                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 3,91                                   | 5                          | -                                | -   | -   | 20  |
| 7,81                                   | 5                          | -                                | -   | -   | 20  |
| 15,63                                  | 5                          | -                                | -   | 20  | 20  |
| 31,25                                  | 5                          | -                                | 20  | 20  | 20  |
| 62,5                                   | 5                          | -                                | 60  | 60  | 80  |
| 125                                    | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 250                                    | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 500                                    | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 1000                                   | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 0                                      | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 0,004                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 0,008                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 0,016                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 0,031                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 0,063                                  | 5                          | -                                | -   | 20  | 20  |
| 0,125                                  | 5                          | -                                | -   | -   | 20  |
| 0,250                                  | 5                          | 60                               | 60  | 80  | 80  |
| 0,500                                  | 5                          | 40                               | 100 | 100 | 100 |
| 1,000                                  | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 2,000                                  | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 0                                      | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 3,91                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 7,81                                   | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 15,63                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 31,25                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 62,50                                  | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 125                                    | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 250                                    | 5                          | -                                | -   | -   | -   |
| 500                                    | 5                          | 60                               | 100 | 100 | 100 |
| 1000                                   | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |
| 2000                                   | 5                          | 100                              | 100 | 100 | 100 |

La información obtenida en los ensayos definitivos es descrita por metal a continuación.

#### *Arsénico*

Las dos concentraciones más bajas no generaron ningún tipo de efecto en los peces. Las otras cuatro concentraciones (45 a 125 mg.L-1) originaron un incremento progresivo a lo largo del tiempo en el registro de peces muertos, así como con nado extraño y movimiento opercular. Además, estas cuatro concentraciones presentaron una relación directa con el número de peces afectados, es decir, que a mayor concentración se

evidenció un mayor número de peces afectados de manera letal (muerte) y subletal (nado extraño y movimiento opercular). Solo la concentración más alta provocó una afectación del total de peces expuestos, primero de manera subletal y luego de forma letal (Tabla 4). Los valores de  $p$  obtenidos a través del ANDEVA para cada tiempo y efecto evaluado fue  $< 0,001$ , lo cual indica que los resultados obtenidos para al menos una de las concentraciones fueron distintos del resto dentro de cada momento de evaluación y efecto esperado (Tabla 4). En base a los resultados generados mediante la prueba de Tukey se identificaron los valores de NOEC y LOEC, los cuales se redujeron de las 24 h a las 48 h de evaluación para los tres efectos, para luego seguir disminuyendo o mantenerse similares a través del tiempo. Para el nado extraño y movimiento opercular los valores de NOEC y LOEC fueron iguales entre las 48 h y 72 h, y luego descendieron a las 96 h. En el caso del efecto letal, ambos valores fueron los mismos desde las 48 h hasta las 96 h (Tabla 4). Los valores de CL50 para el efecto letal y CE50 para los dos efectos subletales obtenidos con el TRAP y Excel Probit mostraron una tendencia a disminuir con el tiempo. Las CL50 fueron mayores a las CE50 del movimiento opercular en la mayoría de tiempos de evaluación, y estos últimos a su vez estuvieron por encima de las CE50 del nado extraño generalmente. Las CL50 y CE50 generados por TRAP fueron ligeramente más altas que las del Excel Probit (Tabla 4). Debido a que el PNEC es la división del CL o CE con un factor de seguridad, los valores obtenidos siempre muestran la misma distribución que estos, variando de 0,057 a 0,113 mg.L-1 para nado extraño, de 0,060 a 0,121 mg.L-1 para movimiento opercular y de 0,060 a 0,123 mg.L-1 para mortalidad, en todos los casos los registros más altos estuvieron a 24 h y los más bajos a 96 h, considerando lo obtenido con TRAP y Excel Probit (Tabla 2). El PNEC obtenido para mortalidad a las 96 h con TRAP (0,060 mg.L-1) y Excel Probit (0,065 mg.L-1) fue alrededor de 2,5 veces menor que el ECA Cat 4 / E2 para este arsénico (0,15 mg.L-1).

**Tabla 4**  
Individuos (%) afectados de *Paracheirodon innesi* y análisis de los efectos letal (EL) y subletal (ES) en los ensayos definitivos con arsénico.

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

  

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

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

### Cadmio

Los peces del control y de la concentración más baja no mostraron ningún tipo de alteración. En las otras cuatro concentraciones, la cantidad de peces afectados se incrementó con la concentración y con el transcurrir del tiempo, tanto para el efecto letal y los subletales. La concentración más alta generó una afectación de todos los peces a las 24 h de exposición. Los resultados de  $p$  ( $< 0,001$ ) revelan que al menos una de las concentraciones difiere del resto dentro de cada tiempo de evaluación para cada efecto esperado (Tabla 5). Los valores de NOEC y LOEC para el nado extraño se redujeron de las 24 h a las 48 h y se mantuvieron constantes hasta las 96 h; mientras que los de movimiento opercular y efecto letal fueron iguales, con valores similares entre las 24 h y 48 h, luego se redujeron a las 72 h y se mantuvieron hasta las 96 h (Tabla 5). Las CE50 para nado extraño e incremento de movimiento opercular se redujeron de manera gradual de 24 h hasta 72 h y se mantuvieron iguales hasta las 96 h; mientras que para el efecto letal la reducción del CL50 fue progresiva hasta las 96 h. Los valores obtenidos con TRAP fueron mayores a los del Excel Probit en todos los casos, a excepción de los registros de 24 h donde la tendencia fue inversa, con los valores de Excel Probit por encima de los de TRAP (Tabla 5). Los resultados de PNEC fluctuaron entre 0,021 y 0,1 mg.L-1 para nado extraño, entre 0,023 y 0,089 mg.L-1 para incremento de movimiento opercular y mortalidad, en los tres casos con los registros

más bajos a las 96 h y los más altos a las 24 h, considerando lo obtenido con TRAP y Excel Probit (Tabla 5). Para mortalidad a las 96 h de evaluación, los valores de PNEC calculados para TRAP (0,023 mg.L<sup>-1</sup>) y Excel Probit (0,029 mg.L<sup>-1</sup>) estuvieron alrededor de dos órdenes de magnitud (100 veces) por encima del valor del el ECA Cat 4 / E2 para este metal (0,00025 mg.L<sup>-1</sup>).

**Tabla 5**  
Individuos (%) afectados de *Paracheirodon innesi* y análisis de los efectos letal (EL) y subletal (ES) en los ensayos definitivos con cadmio.

| mg L <sup>-1</sup> | Nado extraño (ES) |      |      |      | Movimiento opercular (ES) |      |      |      | Muerte (EL) |      |      |      |
|--------------------|-------------------|------|------|------|---------------------------|------|------|------|-------------|------|------|------|
|                    | 24 h              | 48 h | 72 h | 96 h | 24 h                      | 48 h | 72 h | 96 h | 24 h        | 48 h | 72 h | 96 h |
| -                  | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 1,9                | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 5,4                | 5                 | 8    | 8    | 8    | 3                         | 8    | 8    | 8    | 3           | 5    | 8    | 8    |
| 15,3               | 3                 | 13   | 15   | 15   | 3                         | 8    | 13   | 13   | 3           | 8    | 13   | 13   |
| 43,8               | 40                | 73   | 88   | 88   | 38                        | 70   | 85   | 85   | 38          | 70   | 83   | 85   |
| 125                | 100               | 100  | 100  | 100  | 100                       | 100  | 100  | 100  | 100         | 100  | 100  | 100  |

  

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

\* = valores calculados con cautela.

## Mercurio

En el control, así como en las dos concentraciones más bajas no se observaron peces con algún tipo de afección. En las cuatro concentraciones restantes, los peces mostraron una respuesta letal o subletal, la cual aumentó casi de manera progresiva con los días de evaluación y concentración del metal. En la concentración más alta, todos los peces mostraron una afección letal a las 24 h. Al final del ensayo (96 h), en la concentración 0,080 mg.L<sup>-1</sup>, el porcentaje de peces que mostraron algún tipo de respuesta fue mucho menor al de las concentraciones 0,16 mg.L<sup>-1</sup> y 0,20 mg.L<sup>-1</sup>. Los resultados de p fueron menores a 0,001, indicando que los resultados de por lo menos una de las concentraciones fueron diferentes a las otras, para cada momento de evaluación y efecto esperado (Tabla 6). El valor de NOEC para todos los efectos y tiempos de evaluación fue el mismo, con 0,08 mg.L<sup>-1</sup>. De manera similar, el valor de LOEC no varió y fue 0,16 mg.L<sup>-1</sup>, para todos los casos (Tabla 6). Los registros de CE50 para nado extraño y movimiento opercular y CL50 para

mortalidad se incrementaron gradualmente con el tiempo de evaluación, siendo la CL50 mayor a la CE50 de movimiento opercular y este a su vez mayor a la CE50 de nado extraño, para cada momento de evaluación. Esta tendencia se mantuvo tanto para los resultados obtenidos con TRAP como Excel Probit, siendo los valores muy similares; aunque los valores resultantes con TRAP a las 24 h y 48 h fueron menores a los de Excel Probit y a las 72 h y 96 h fueron mayores (Tabla 6). Referente a los PNEC, fluctuaron de 0,00013 a 0,00040 mg.L-1 para mortalidad, de 0,00013 a 0,00026 mg.L-1 para movimiento opercular y de 0,00011 a 0,00025 mg.L-1 para nado extraño, con los valores más bajos a las 96 h y los más altos a las 24 h en todos los casos, considerando lo obtenido con TRAP y Excel Probit (Tabla 6). El PNEC obtenido para mortalidad a las 96 h con TRAP (0,00013 mg.L-1) y Excel Probit (0,00014 mg.L-1) fue ligeramente mayor al ECA Cat 4 / E2 para mercurio (0,00010 mg.L-1).

**Tabla 6**  
Individuos (%) afectados de *Paracheirodon innesi* y análisis de los efectos letal (EL) y subletal (ES) en los ensayos definitivos con mercurio.

| mg L <sup>-1</sup> | Nado extraño (ES) |      |      |      | Movimiento opercular (ES) |      |      |      | Muerte (EL) |      |      |      |
|--------------------|-------------------|------|------|------|---------------------------|------|------|------|-------------|------|------|------|
|                    | 24 h              | 48 h | 72 h | 96 h | 24 h                      | 48 h | 72 h | 96 h | 24 h        | 48 h | 72 h | 96 h |
| -                  | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 0,013              | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 0,032              | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 0,080              | 5                 | 5    | 5    | 10   | 3                         | 3    | 5    | 5    | 3           | 3    | 5    | 5    |
| 0,160              | 35                | 43   | 78   | 90   | 35                        | 38   | 58   | 80   | 20          | 38   | 58   | 80   |
| 0,200              | 30                | 40   | 90   | 100  | 23                        | 33   | 70   | 95   | 15          | 28   | 50   | 93   |
| 0,500              | 100               | 100  | 100  | 100  | 100                       | 100  | 100  | 100  | 100         | 100  | 100  | 100  |

  

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

\* = valores calculados con cautela.

### Plomo

En las dos concentraciones más bajas y en el control, los peces no mostraron ninguna afectación. Por su parte, la concentración más alta generó la mortalidad del total de peces expuestos a las 24 h de iniciado el ensayo. Las restantes cuatro concentraciones provocaron efectos adversos en los peces expuestos, letal y subletal, que se incrementaron de manera

continúa con la concentración y el tiempo transcurrido, en la mayoría de los casos. Los resultados de  $p$  ( $< 0,001$ ) reflejaron que al menos una de las concentraciones se distingue de las otras dentro de cada tiempo de evaluación para cada efecto esperado (Tabla 7). Los valores de NOEC y LOEC presentaron la misma tendencia de variación y fueron los mismos para los tres efectos evaluados, disminuyendo de 280 mg.L-1 (de 24 a 72 h) a 245 mg.L-1 (96 h) para NOEC y de 315 mg.L-1 (de 24 a 72 h) a 280 mg.L-1 (96 h) para LOEC (Tabla 7). Los registros de CL50 para mortalidad y CE50 para nado extraño y movimiento opercular disminuyeron gradualmente con el tiempo de evaluación. Los valores de CL50 para mortalidad y CE50 para movimiento opercular fueron casi iguales, a excepción del valor para las 72 h, donde la CL50 fue ligeramente mayor a la CE50. Las CE50 para nado extraño fueron menores a las CE50 de movimiento opercular en todos los tiempos de evaluación. Todos los valores obtenidos con TRAP fueron mayores a los de Excel Probit (Tabla 7). Respecto al PNEC, los valores oscilaron entre 0,273 mg.L-1 y 0,316 mg.L-1 para nado extraño, entre 0,278 mg.L-1 y 0,318 mg.L-1 para movimiento opercular, y entre 0,278 mg.L-1 y 0,318 mg.L-1 para mortalidad, con los registros más altos a las 24 h y los más bajos a las 96 h en los tres casos, considerando lo obtenido con TRAP y Excel Probit (Tabla 7). Para mortalidad a las 96 h de evaluación, los valores de PNEC calculados para TRAP (0,282 mg.L-1) y Excel Probit (0,278 mg.L-1) fueron mucho más altos, ligeramente mayores a dos órdenes de magnitud (100 veces), que el valor del ECA Cat 4 / E2 para este metal (0,0025 mg.L-1).

**Tabla 7**  
Individuos (%) afectados de *Paracheirodon innesi* y análisis de los efectos letal (E.L.) y subletal (E.S.) en los ensayos definitivos con plomo.

| mg L <sup>-1</sup> | Nado extraño (ES) |      |      |      | Movimiento opercular (ES) |      |      |      | Muerte (EL) |      |      |      |
|--------------------|-------------------|------|------|------|---------------------------|------|------|------|-------------|------|------|------|
|                    | 24 h              | 48 h | 72 h | 96 h | 24 h                      | 48 h | 72 h | 96 h | 24 h        | 48 h | 72 h | 96 h |
| -                  | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 120                | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 172                | -                 | -    | -    | -    | -                         | -    | -    | -    | -           | -    | -    | -    |
| 245                | 15                | 23   | 25   | 28   | 13                        | 18   | 23   | 28   | 13          | 18   | 23   | 28   |
| 280                | 10                | 13   | 25   | 25   | 10                        | 13   | 23   | 40   | 10          | 10   | 23   | 40   |
| 315                | 43                | 23   | 58   | 80   | 43                        | 53   | 75   | 78   | 43          | 53   | 73   | 78   |
| 350                | 85                | 90   | 93   | 93   | 83                        | 90   | 93   | 93   | 83          | 90   | 93   | 93   |
| 500                | 100               | 100  | 100  | 100  | 100                       | 100  | 100  | 100  | 100         | 100  | 100  | 100  |

  

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

\* = valores calculados con cautela.

## Discusión

El efecto letal de los metales (cobre, mercurio, plomo, y zinc), ha sido adscrito a la coagulación del moco de la superficie de las agallas, daño al tejido de las agallas y consecuentemente falla en la respiración (Authman et al., 2015). Incremento de movimiento opercular ha sido observado en peces expuestos a algunos metales pesados (Wang et al., 2013). Los síntomas por intoxicación aguda de metales pesados en peces comprenden, rigidez del cuerpo, disminución de la motilidad y suspensión en la zona superficial con la parte posterior del cuerpo dirigida hacia el fondo; estos síntomas son seguidos por la pérdida de balance y finalmente por el hundimiento del individuo en el fondo antes de la muerte (Sehgal y Saxena, 1987). Todos estos síntomas fueron observados durante los ensayos de los cuatro metales.

El orden de toxicidad del estudio fue: mercurio > cadmio > arsénico (forma arseniato) > plomo, lo cual es comparable, en cierta medida, a los hallazgos de otras investigaciones. Buhl y Hamilton (1991) identificaron la siguiente clasificación de toxicidad, cadmio > mercurio > arsénico (arsenito), con el empleo de individuos alevines (20 mm) y juveniles

(43 mm) de trucha arcoíris (*O. mykiss*) en ensayos de toxicidad aguda empleando agua suave reconstituida (dureza de 41 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>). Por otro lado, Hamilton y Buhl (1990) determinaron la toxicidad aguda para varios tóxicos con el uso de agua de quebrada (dureza de 211 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>), teniendo como resultado el siguiente orden de toxicidad, cadmio > mercurio > arsénico (arsenito). Para pruebas con carpa cabezona *Pimephales promelas* (Rafinesque, 1820) en agua blanda (dureza de 44 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>), Spehar y Fiandt (1986) reportaron este orden de toxicidad, cadmio > mercurio > arsénico (arsenito). La diferencia del orden de toxicidad entre mercurio y cadmio, del presente estudio y otras investigaciones, podrían estar relacionadas con ciertos factores, tales como, características del agua de dilución (dureza, pH, temperatura, etc), especies y estadíos (larva, alevín, juvenil, adulto) de los organismos de prueba, y a climatización, entre otros, los cuales pueden modificar la toxicidad de los metales (Sprague, 1985). En los diversos estudios, se ha registrado que a mayor tiempo de exposición la CL50 disminuye, es decir que, el contaminante se vuelve más tóxico, y la tasa de individuos afectados, de manera letal y subletal, se incrementa para mercurio (Zakaria et al., 2016), arsénico (Liu et al., 2008), cadmio (Shuhaimi-Othman et al., 2013) y plomo (Martinez et al., 2004).

Para arsénico el valor de CL50#96h en el presente estudio fue 60,3 y 65,5 mg.L<sup>-1</sup>. Para larvas y juveniles del pez cebra, Liu et al. (2005, 2008), obtuvieron una CL50#96h de 272 y 56 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, mostrando que los juveniles de esta especie presentan una sensibilidad similar a los alevines de neón tetra para el arsénico en forma de arseniato de sodio. Tisler y Zagorc-Koncan (2002), identificaron una CL50-96h mucha más baja para el pez cebra (15,3 mg.L<sup>-1</sup>) y juveniles de trucha arco iris (28,1 mg.L<sup>-1</sup>), al emplear trióxido de arsénico en agua dura (dureza 250 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>). Para juveniles de trucha arco iris, Buhl y Hamilton (1990), registraron una CL50-96h (67,5 mg.L<sup>-1</sup>) similar a la identificada para neón tetra al usar agua blanda (dureza 41 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>); sin embargo, la CL50-96h se incrementó alrededor de seis veces (> 360 mg.L<sup>-1</sup>) empleando alevines de entre 7 y 10 semanas de vida.

Respecto a cadmio, la CL50-96h fue de 23,1 y 29,4 mg.L<sup>-1</sup>; siendo mucho mayor al valor registrado por Wang et al. (2013) y Chouikhi (1979) para el pez cebra, 6,5 mg.L<sup>-1</sup> (individuos de 23 mm promedio) y 3,3 mg.L<sup>-1</sup>, utilizando nitrato de cadmio en agua semidura (dureza 120 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>) y cloruro de cadmio, respectivamente. Asimismo, fue mayor a lo obtenido por Canton y Slooff (1982) con guppys (3-4 semanas), 3,8 mg.L<sup>-1</sup> en agua blanda y 11,1 mg.L<sup>-1</sup> en agua dura; y fue 138 veces (0,17 mg.L<sup>-1</sup>) lo reportado por Shuhaimi-Othman et al. (2013), al usar guppys adultos en agua blanda (dureza 18,7 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>); en ambos casos empleando cloruro de cadmio como tóxico. Sin embargo, lo registrado en el estudio fue menor a la CL50#96h de 30,4 mg.L<sup>-1</sup> reportada por Yilmaz et al. (2004), que obtuvo usando *Poecilia reticulata* Peters, 1859 y cloruro de cadmio. Es importante resaltar que, lo obtenido para ejemplares de trucha arco iris (200#400 mg) por Mebane et al. (2008), CL50#96h de 0,00084 y 0,00089 mg.L<sup>-1</sup>, usando agua blanda

(dureza 7-22 mg.L-1 CaCO<sub>3</sub>) y cloruro de cadmio, fue cinco órdenes de magnitud menor al presente estudio.

Con el mercurio se obtuvo una CL50#96h de 0,129 y 0,137 mg.L-1 para los neones, que no difiere en gran medida de lo reportado en otras investigaciones, como por ejemplo: por Wang et al. (2013) para peces cebra (23 mm promedio), CL50#96h 0,14 mg.L-1 (dureza 120 mg.L-1 CaCO<sub>3</sub>); por Zakaria et al. (2016) y Morgan (1982) para *P. reticulata* (de 25#35 mm y 2 semanas), CL50#96h de 0,0958 mg.L-1 (dureza 29,8 mg.L-1 CaCO<sub>3</sub>) y 0,2 mg.L-1, respectivamente; empleando cloruro de mercurio. De igual manera, la CL50#96h registrada para trucha arcoíris (expuesta a cloruro de mercurio) fue similar; Calamari y Marchetti (1973) obtuvieron 0,016 mg.L-1 (dureza 290#310 mg.L-1 CaCO<sub>3</sub>) para ejemplares de 120#160 mm de longitud; Buhl y Hamilton (1991) reportaron 0,193 y 0,217 mg.L-1 (dureza de ambos 41 mg.L-1 CaCO<sub>3</sub>) con juveniles (43 mm promedio) y alevines (20 mm promedio), respectivamente.

En relación al plomo, para el neón tetra se determinó una CL50-96 h de 278 y 282 mg.L-1; valores que están muy por encima de lo obtenido en las otras investigaciones (entre 1 y 5 órdenes de magnitud) con pez cebra (Alsop y Wood, 2011), *P. reticulata* (Gadkary y Marathe, 1983) y trucha arcoíris (Buhl y Hamilton, 1990) empleando nitrato de plomo como tóxico; a excepción de lo reportado por Sehgal y Saxena (1987) para *P. reticulata*, 1 632 y 1 625 mg.L-1 (dureza 71 mg.L-1 CaCO<sub>3</sub>, ambos), para hembra (promedio de 19 mm) y machos (promedio de 17 mm), respectivamente.

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

Las especies presentan distintas sensibilidades a la toxicidad de los diversos metales, las cuales se deben a las variaciones biológicas naturales de la composición genética de las poblaciones y condiciones individuales de los peces. Es usual que la variación sea menor dentro de una especie, considerando los estadíos, la condición de salud, condiciones del medio natural de origen; y mayor entre especies (Zakaria et al., 2016). Asimismo, los resultados obtenidos en los ensayos de toxicidad podrían estar influenciados por la historia de vida de los peces empleados, de donde provienen (OECD, 2014).

Algunos indican que las larvas generalmente son el estadío más sensible de los peces para contaminantes, tales como los metales (Alsop y Wood, 2011). Sin embargo, muchos estudios, han demostrado tener resultados opuestos. Buhl y Hamilton (1991) identificaron que los juveniles fueron

más sensibles a los tóxicos (entre ellos arsénico, cadmio y mercurio) que los alevines.

Al contrastar los valores de PNEC para mortalidad a 96h de exposición con los ECA Cat 4 /E2 Río Selva, se identificó que, de los cuatro metales evaluados, el ECA para arsénico no brindaría protección alguna para la vida acuática, al estar muy por encima de los PNEC estimados. Por su parte el ECA para mercurio, ofrecería un cierto grado de protección por ser ligeramente menor de los PNEC calculados. Por otro lado, los ECA para cadmio y plomo si serían apropiados y asegurarían la conservación del ambiente acuático, por estar muy por debajo que los PNEC inferidos. Es importante mencionar que, en el D.S. N° 004-2017 se indica que los valores de los distintos parámetros, entre ellos los cuatro metales de estudio, se encuentran en concentraciones totales, a excepción del cadmio, donde se precisa como disuelto para el ECA Cat 4 /E2 Río Selva.

## Conclusiones

Los valores de CL50#96h indicaron que el grado de toxicidad de los metales evaluados con neón tetra, en orden descendente, fue: mercurio > cadmio > arsénico > plomo. Las CL50#96h identificadas para arsénico, cadmio, mercurio y plomo mediante los métodos Excel Probit y TRAP fueron similares. En base a los PNEC estimados y su comparación con los ECA Cat 4 /E2 Río Selva, aplicables vigentes, se puede indicar que la concentración límite para arsénico no es apropiada y su cumplimiento no aseguraría la conservación del medio acuático.

## Referencias

1. Alpha, R. 2017. Calculating LD50/LC50 using Probit analysis in Excel. [fecha de acceso 17 de diciembre de 2017]. Disponible en: <https://probitanalysis.wordpress.com/2016/07/07/first-blog-post/>
2. Alsop D, Wood C. Metal uptake and acute toxicity in zebrafish: common mechanisms across multiple metals. *Aquat. Toxicol.* 2011; 105, 385#393.
- Authman M, Zaki M, Khallaf E, Abbas H. Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *J. Aquac. Res. Development.* 2015; 6, 1-13.
- Bradl H. Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation. vol 6. Elsevier/Academic Press. 2005. London.
5. Buhl K, Hamilton S. Comparative toxicity of inorganic contaminants released by placer mining to early life stages of salmonids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1990; 20, 325-342.
6. Buhl K, Hamilton S. Relative sensitivity of early life stages of arctic grayling, coho salmon, and rainbow trout to nine inorganics. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1991; 22, 184-197.
7. Calamari D, Marchetti R. The toxicity of mixtures of metals and surfactants to rainbow trout (*Salmo gairdneri* rich.). *Water Res.* 1973; 7, 1453-1464.

8. Canton J, Slooff W. Toxicity and accumulation studies of Cadmium (Cd<sup>2+</sup>) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1982; 6 (1), 113-128.
9. Chouikhi A. Choice and set up of the food chains in freshwater in order to show the bioaccumulation character of a pollutant. OECD-IRCHA Université Paris-Sud, Unité d'Enseignement et de Recherche d'Hygiène et Protection de l'Homme et de son Environnement. 1979. Paris.
10. Gadkari A, Marathe V. Toxicity of cadmium and lead to a fish and a snail from two different habitats. *Ind. Ass. Water Poll. Cont. Technol.* 1983; 5, 141-148.
11. Hamilton S, Buhl K. Safety assessment of selected inorganic elements to fry of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 1990; 20, 307-324.
12. Iannacone J, Onofre R, Huanqui O. Efectos ecotoxicológicos del cartap sobre la *Poecilia reticulata* "guppy" (Poeciliidae) y *Paracheirodon innesi* "neón tetra" (Characidae). *Gayana.* 2007a; 71, 170-177.
13. Iannacone J, Onofre R, Huanqui S, Giraldo A, Mamani P, Miglio T, Alvarino F. Evaluación del riesgo ambiental del insecticida metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no destinatarios. *Agric. Téc.* 2007b; 67, 126-138.
14. Iannacone J, Paredes C, Alvarino L. Evaluación ecotoxicológica de una cocha amazónica peruana. *Biologist (Lima).* 2009; 7, 4-4.
15. Iannacone J, Alvarino L, Paredes C, Alayo M, Mamani N, Bonifacio J, Mariano M, Miglio M. Evaluación del riesgo ambiental de carbofurano en bioensayos con organismos no blanco. *Acta Toxicol. Argent.* 2011; 19, 19-31.
16. Iannacone J, Ayala H, Alvarino L, Paredes C, Villegas W, Alomia J, Santos S, Nolasco N, Cruces L. Riesgo ecotoxicológico acuático y terrestre del bioplaguicida catahua, *Hura crepitans* (Euphorbiaceae). *Rev. Toxicol.* 2014; 31, 50-62.
17. Kucharczyk D, Targonska K, Zarski D, Krejszeff S, Kupren K, Luczynski M, Szczerbowski A. The reproduction of neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936), under controlled conditions. *Pol. J. Natur. Sc.* 2010; 25, 81-92.
18. Kumari B, Kumar V, Sinha A, Ahsan J, Ghosh A, Wang H, DeBoeck G. Toxicology of arsenic in fish and aquatic system. *Environ. Chem. Lett.* 2016; 15, 43-64.
19. Liu F, Kendall R, Theodorakis C. Joint toxicity of sodium arsenate and sodium perchlorate of zebrafish *Danio rerio* larvae. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005; 24, 1505-1507.
20. Liu F, Gentles A, Theodorakis CW. Arsenate and perchlorate toxicity, growth effects, and thyroid histopathology in hypothyroid zebrafish *Danio rerio*. *Chemosphere.* 2008; 71, 1369-1376.
21. Martinez C, Nagae M, Zaia C, Zaia D. Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Braz. J. Biol.* 2004; 64, 797-807.
22. Mebane C, Hennessy D, Dillon F. Developing acute-to-chronic toxicity ratios for lead, cadmium, and zinc using rainbow trout, a mayfly, and a midge. *Water Air Soil Pollut.* 2008; 188, 41-66.

23. (MINAM) Ministerio del Ambiente. 2017. Decreto supremo N° 004 2017 MINAM. Aprobado el 07 de junio del 2017.
24. Morgan W. The development of continuous automatic biological monitoring systems for water quality control. A thesis to obtain the degree of Doctor of Philosophy in the Faculty of Science, University of Cape Town. 1982. Cape Town.
25. OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Manual for the Assessment of Chemicals. 2011. [fecha de acceso 17 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/manualfortheassessmentofchemicals.htm>
26. OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). Guideline for testing of chemicals. Fish, Acute Toxicity Test. 2014. 21 p.
27. Palacios S, Sandoval N, Bueno Ch, Manchego A. Estudio microbiológico e histopatológico en peces tetra neón (*Paracheirodon innesi*) de la Amazonía Peruana. *Rev. investig. vet. Perú*. 2015; 26, 469-483.
28. Pandey G, Madhury S. Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. *Res. J. An. Vet. Fish. Sci*. 2014; 2, 17-23.
29. Sanaye S, Singh H, Tibile R. Growth and survival of neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) fry fed mixed zooplankton, formulated feed and combination thereof. *Ann. Biol. Res*. 2012; 3, 5665-5668.
30. Sehgal R, Saxena, A. Determination of acute toxicity levels of cadmium and lead to the fish *Lebistes reticulatus* (peters). *Int. J. Environ. Stud*. 1987; 29, 157-161.
31. Shafaqat A, Mujahid F, Saima B, Rehan A. Effect of different heavy metal pollution on fish. *Res. J. Chem. Envi. Sci*. 2014; 2, 74-79.
32. Shuhaimi-Othman M, Nadzifah Y, Nur-Amalina R, Umirah N. Deriving freshwater quality criteria for copper, cadmium, aluminum and manganese for protection of aquatic life in malaysia. *Chemosphere*. 2013; 90, 2631-2636.
33. Spehar R, Fiandt J. Acute and chronic effects of water quality criteria-based metal mixtures on three aquatic species. *Environ. Toxicol. Chem*. 1986; 5, 917-931.
34. Sprague J. Factors that modify toxicity. In: *Fundamentals of Aquatic Toxicology* (Rand GM, Petrocelli, SR (Eds.), pp. 124-163. Hemisphere Publishing. 1985. Washington, DC.
35. Tisler T, Zagorc-Koncan J. Acute and chronic toxicity of arsenic to some aquatic organisms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 2002; 69, 421-429.
36. USEPA (United States Environmental Protection Agency). 2015. [fecha de acceso 17 de diciembre de 2017]. Disponible en: [https://archive.epa.gov/med/med\\_archive\\_03/web/html/trap.html](https://archive.epa.gov/med/med_archive_03/web/html/trap.html)
37. USEPA (United States Environmental Protection Agency). Ecological Effects Test Guidelines. 2016. OCSPP 850.1075: Freshwater and Saltwater Fish Acute Toxicity Test. Office of Chemical Safety and Pollution Prevention (7101). EPA 712-C-16-007. 19 p.
38. Wang H, Liang Y, Li S, Chang J. Acute toxicity, respiratory reaction, and sensitivity of three cyprinid fish species caused by exposure to four heavy metals. *Plos one*. 2013; 8, 1-7.

39. Yilmaz M, Gul A, Karakose E. Investigation of acute toxicity and the effect of cadmium chloride ( $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) Metal Salt on Behavior of the Guppy (*Poecilia reticulata*). Chemosphere. 2004; 56, 375-380.
40. Zakaria N, Ahmad A, Mahazar M. Acute toxicity of mercury to three freshwater organisms species in Malaysia. Aust. J. Basic. Appl. Sci. 2016; 10, 124-129.

### **Notas de autor**

jvtomailla@gmail.com