



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

GNOSEOLOGY BETWEEN BRAIN SIZE AND BIOACCUMULATION OF HEAVY METALS IN *GAMBUSIA PUNCTATA* (POEY, 1854)GNOSEOLOGÍA ENTRE EL TAMAÑO CEREBRAL Y LA BIOACUMULACIÓN DE METALES PESADOS EN *GAMBUSIA PUNCTATA* (POEY, 1854)George Argota-Pérez^{1,2*}; Rigoberto Fimia-Duarte³, José-Iannacone^{2,4,5}; Rafael Armiñana-García⁶ & Ricardo Osés-Rodríguez⁷

¹ Centro de Investigaciones Avanzadas y Formación Superior en Educación, Salud y Medio Ambiente "AMTAWI". Puno, Perú. george.argota@gmail.com

² Grupo de Investigación "One-Health-Una Salud". Universidad Ricardo Palma. Lima, Perú.

³ Facultad de Tecnología de la Salud "Julio Trigo López". Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba. rigoberto@informed.sld.cu

⁴ Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (GISA), Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima, Perú.

⁵ Laboratorio de Zoología. Grupo de Investigación "One Health". Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú. joseiannacone@gmail.com

⁶ Centro de estudios de Educación "Gaspar Jorge García Galló". Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Villa Clara, Cuba. rarminana@uclv.cu

⁷ Centro Meteorológico Provincial de Villa Clara, Cuba. ricardo.oses@vcl.insmet.cu

* Corresponding author: george.argota@gmail.com

George Argota-Pérez: <https://orcid.org/0000-0003-2560-6749>

Rigoberto Fimia-Duarte: <https://orcid.org/0000-0001-5237-0810>

José Iannacone: <https://orcid.org/0000-0003-3699-4732>

Rafael Armiñana-García: <https://orcid.org/0000-0003-2655-7002>

Ricardo Osés-Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0002-6885-1413>

ABSTRACT

The purpose of the study was to describe the gnoseology between brain size and metal bioaccumulation in *Gambusia punctata* (Poey, 1854). In September 2022, sampling was conducted in the lower Almendares River, Havana, Cuba: latitude / 23°06'4.92"; longitude / 82°24'30.41", where 37 individuals (26 females and 11 males) were captured for determination of brain size and bioaccumulation of lead (Pb) and cadmium (Cd). The statistical t-Student test indicated that there was no significant difference ($p = 0.44$) between males and females according to brain size (1.57 ± 0.09 and 1.59 ± 0.08 mm). Bioaccumulation of Pb was: male = 0.084 ± 0.014 ; female 0.097 ± 0.022 and for Cd corresponded to male = 0.085 ± 0.014 ; female 0.108 ± 0.027). Multiple linear regression analyses between brain size and bioaccumulation

Este artículo es publicado por la revista Neotropical Helminthology de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú auspiciado por la Asociación Peruana de Helminthología e Invertebrados Afines (APHIA). Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original.



DOI: <https://dx.doi.org/10.24039/rnh20231711571>

of heavy metals indicated, p-value = 0.90 (males) and p-value = 0.35 (females). It was concluded that there was bioaccumulation of Pb and Cd in the brain of individuals of the species *G. punctata*. Bioaccumulation of Pb was similar in both sexes, although there was greater bioaccumulation to Cd in females. However, Pb and Cd bioaccumulation was not detrimentally related to brain size.

Keywords: bioavailability – cadmium – contamination – fish – lead

RESUMEN

El propósito del estudio fue describir la gnoseología entre el tamaño cerebral y la bioacumulación de metales en la *Gambusia punctata* (Poey, 1854). En septiembre de 2022 se realizó un muestreo en la parte baja del río Almendares, La Habana, Cuba: latitud / 23°06'4.92"; longitud / 82°24'30.41", donde 37 individuos (26 hembras y 11 machos) se capturaron para la determinación del tamaño cerebral y la bioacumulación de plomo (Pb) y cadmio (Cd). La prueba estadística t-Student indicó, que no hubo diferencias significativas ($p = 0,44$) entre los machos y las hembras, según el tamaño cerebral ($1,57 \pm 0,09$ y $1,59 \pm 0,08$ mm). La bioacumulación de Pb fue: macho = $0,084 \pm 0,014$; hembra $0,097 \pm 0,022$ y para el Cd correspondió a: macho = $0,085 \pm 0,014$; hembra $0,108 \pm 0,027$). El análisis de regresión lineal múltiple entre el tamaño cerebral y la bioacumulación de los metales pesados indicó, valor $p = 0,90$ (machos) y valor $p = 0,35$ (hembras). Se concluyó, que hubo bioacumulación de Pb y Cd en el cerebro de los individuos de la especie *G. punctata*. La bioacumulación al Pb fue similar en ambos sexos, aunque existió mayor bioacumulación al Cd en las hembras. Sin embargo, la bioacumulación del Pb y Cd no se relacionaron de modo perjudicial con el tamaño cerebral.

Palabras clave: biodisponibilidad – cadmio – contaminación – peces – plomo

INTRODUCCIÓN

El río Almendares de La Habana, Cuba, es uno de los ecosistemas que se encuentra contaminado por la exposición a metales pesados (Argota et al., 2016; Díaz et al., 2019; Suárez et al., 2021; Larrea et al., 2022). En consecuencia, los peces como grupo taxonómico en la cadena trófica superior presentan riesgo de supervivencia (Nagelkerken & Connell, 2015; Elleuch et al., 2018; Vinagre et al., 2019), y por tanto, resulta de prioridad permanente, evaluar la calidad ambiental de las aguas y en los propios peces (Argota et al., 2018; López et al., 2020; Argota et al., 2020a). Algunas especies de la familia Poeciliidae habitan en el río Almendares y se conoce, que estos individuos presentan rápida adaptación a los cambios ambientales donde muestran su amplia variación fenotípica (Reznick, 1990). Dada esta característica, entonces se utilizan para estudios de ecología (Ponce de León & Rodríguez, 2010), genética, oncología y biología del desarrollo (Meffe & Snelson, 1993).

Aunque, existe un predominio de las investigaciones sobre respuestas ecológicas como la depredación durante el biocontrol de larvas de mosquitos (Fimia et al., 2016; Gachelin et al., 2018; Dambach, 2020), también los

poecilidos permiten analizar la estabilidad ambiental (Stearns, 1983). Sin embargo, pocos estudios en Cuba refieren la bioacumulación de metales pesados en los poecilidos y una de las especies de esta familia que habita en el río Almendares es la *Gambusia punctata* (Poey, 1854). Especies del género permiten el biomonitoreo y la predicción de riesgo ambiental cuando existe presencia de metales pesados (Ramesh et al., 2018; Rodrigues et al., 2018; Espinosa et al., 2019; Argota et al., 2020b; Cheghib et al., 2020). Se plantea en este estudio el silogismo de argumentación deductiva siguiente:

- P1: La bioacumulación de metales pesados es perjudicial.
- P2: Lo perjudicial afecta el tamaño cerebral de la *G. punctata*.
- C: La bioacumulación de metales pesados afecta el tamaño cerebral de la *G. punctata*.

El objetivo del estudio fue describir la gnoseología entre el tamaño cerebral y la bioacumulación de metales en la *G. punctata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en septiembre de 2022 y correspondió

a la parte baja del río Almendares, La Habana, Cuba: latitud / 23°06'4.92"; longitud / 82°24'30.41" (Figura 1).

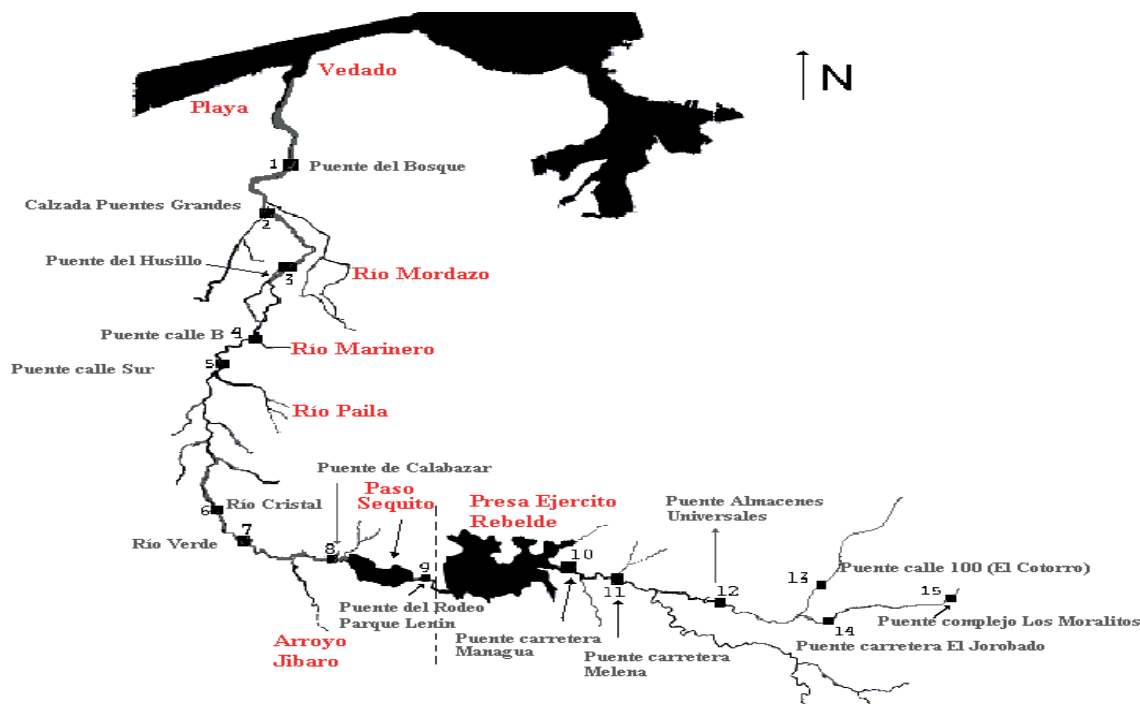


Figura 1. Estación de muestreo en la parte baja del río Almendares, La Habana, Cuba.

Mediante un jamo profesional rectangular (60 x 50 x 45 cm, luz de malla de 0,5 cm) se capturaron 37 ejemplares: 26 hembras y 11 machos que se identificaron por la presencia de su gonopodio (Reznick, 1990; McPeck, 1992). Se seleccionaron individuos que pertenecían al intervalo de clase 2,1-3,1 cm de longitud total. Los ejemplares se lavaron con agua destilada y en condiciones *in-situ* se les extrajo el cerebro (Argota & Iannacone, 2022), para la medición de su tamaño con un pie de rey digital (marca: Tacklife $\pm 0,02$ mm).

Luego, se depositaron en forma de pool (debido al tamaño pequeño del órgano) en dos frascos de cristal (50 mL) que contenían 1 mL de H_2SO_4 para la conservación de las muestras y posterior, análisis de los metales pesados. La determinación de plomo (Pb) y cadmio (Cd) se realizó vía digestión ácida y la cuantificación fue por espectrometría de absorción atómica de plasma inductivamente acoplado con vista axial (Argota *et al.*, 2019, Argota *et al.*, 2022).

El tratamiento estadístico de los datos fue con el programa profesional SPSS v25. La normalidad de los datos se realizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. El tamaño del cerebro y la bioacumulación de los metales

pesados entre machos y hembras se comparó mediante la prueba t-Student. Se aplicó una regresión lineal múltiple entre el tamaño del cerebro y la bioacumulación de plomo y cadmio. Los resultados se consideraron significativos cuando $p < 0,05$.

Aspectos éticos: la eutanasia de los peces consistió en bolsas plásticas con agua tratada y abundante hielo para tranquilizar a los peces durante su inmersión y posterior, disección (Argota *et al.*, 2018). No hubo manipulación de los datos y el parafraseo de la información fue adecuado, según la construcción teórica del conocimiento científico.

RESULTADOS

La tabla 1, muestra estadígrafos descriptivos de la variable tamaño cerebral (mm) en los machos y las hembras. La prueba estadística t-Student fue = -0,76 donde correspondió un valor de $p = 0,44$. El intervalo de confianza se extendió desde -0,085 hasta 0,038. Por consiguiente, no hubo diferencias estadísticas significativas.

Tabla 1. Estadígrafos descriptivos en el tamaño del cerebro para machos y hembras (mm) de *Gambusia punctata*.

Estadígrafos	Machos	hembras
Promedio	1,57	1,59
Desviación estándar	0,09	0,08
Coefficiente de variación (%)	5,75	5,16
Sesgo estandarizado	-0,46	-0,81
Curtosis estandarizada	-0,03	-0,30

La tabla 2, muestra la bioacumulación de Pb y Cd en el cerebro de los machos y las hembras. En el caso de la bioacumulación de Pb (t -Student = -1.89, intervalo de confianza se extendió desde -0,028 hasta 0,001. No se halló diferencias estadísticas significativas, $p_{\text{calculado}} =$

0,067 > 0,05). Sin embargo, hubo diferencias estadísticas significativas en la bioacumulación de Cd entre machos y hembras (t -Student = -2,66, intervalo de confianza se extendió desde -0,040 hasta -0,005, $p = 0,012$).

Tabla 2. Bioacumulación de plomo (Pb) y cadmio (Cd) en *Gambusia punctata* (mg·Kg⁻¹).

Metales pesados	Sexo	Valor
Pb	M	0,084 ± 0,014
	H	0,097 ± 0,022
Cd	M	0,085 ± 0,014
	H	0,108 ± 0,027

La ecuación del modelo de regresión lineal múltiple para el tamaño del cerebro y la bioacumulación de los metales pesados en los machos fue:

$$- \text{Tamaño del cerebro} = 1,64329 - 1,4094 * \text{macho} - \text{Pb} + 0,553691 * \text{macho} - \text{Cd}$$

El estadístico R² explicó el 2,36% de la variabilidad en el tamaño del cerebro. El valor $p = 0,90$ lo cual indicó, que no existió una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95,0%.

En el caso de las hembras, la ecuación del modelo de regresión lineal múltiple para el tamaño del cerebro y la bioacumulación de los metales pesados fue:

$$- \text{Tamaño del cerebro} = 1,51157 + 1,19631 * \text{hembra} - \text{Pb} - 0,293437 * \text{hembra} - \text{Cd}$$

El estadístico R² explicó 8,65% de la variabilidad en el tamaño del cerebro. El valor $p = 0,35$ lo cual indicó, que tampoco existió una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza de 95,0%.

DISCUSIÓN

En este estudio sobre la descripción gnoseológica entre el tamaño cerebral y la bioacumulación de metales en *G. punctata* se halló, que la prueba de regresión lineal múltiple en los machos indicó un valor ($p_{\text{calculado}} = 0,90$) \geq ($p_{\text{tabulado}} = 0,05$) y para las hembras, igualmente el valor ($p_{\text{calculado}} = 0,35$) \geq ($p_{\text{tabulado}} = 0,05$), lo cual señaló, ausencia de una relación estadísticamente significativa entre las variables donde los valores de R² para ambos sexos fueron: 2,36% y 8,65%. Se puede mencionar, que la bioacumulación de plomo en el cerebro fue similar en machos y hembras, pero el cerebro de las hembras presentó mayor bioacumulación con cadmio en comparación a los machos. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticas en el tamaño cerebral entre los sexos. Por tanto, se rechazó la hipótesis que la bioacumulación de metales pesados afecta el tamaño cerebral de la *G. punctata*.

Se menciona, que los metales pesados son los contaminantes ambientales más preocupantes a escala mundial (Ali et al., 2019), y a nivel de trazas causan significación biológica adversas (Moiseenko & Gashkina, 2020), como alteraciones histopatológicas en las branquias, hígado, sistema digestivo y muscular, lo cual

reduce la supervivencia de los peces (Monteiro *et al.*, 2013; Abdel-Khalek *et al.*, 2020).

La determinación de Pb y Cd en este estudio refirió que ambos metales se encontraron biodisponible en el medio acuático. Debe señalarse, que la absorción de los metales pesados depende de múltiples factores como la propia concentración de los metales pesados, tiempo de exposición e interacción con las propiedades físico-químicas de la matriz receptora, edad y desarrollo de los peces, cinética de desintoxicación, metabolismo de los peces y patrón alimentario. Asimismo, el cerebro puede fácilmente estresarse cuando existe, algún mal funcionamiento de otro órgano ante la presencia de los metales pesados (Ahmed *et al.*, 2015). Cuando se genera bioacumulación de metales pesados en los peces, entonces puede producirse efectos de toxicidad crónica (Sun *et al.*, 2016), aunque cada bioacumulación debe ser evaluada con un enfoque diferente (Utembe *et al.*, 2018), siendo discutido un nuevo documento de orientación por la OECD (Organización Económica para la Cooperación y el Desarrollo) que dispone la evaluación potencial de bioacumulación (Rasmussen *et al.*, 2019). Finalmente, uno de los desafíos para conocer el potencial de bioacumulación radica en la analítica y las biotransformaciones que muestran los contaminantes como los metales pesados (Ng *et al.*, 2019; Handy *et al.*, 2022), aunque en este estudio, no se determinó la especiación química.

La principal limitación del estudio fue que no hubo comparación con la misma especie en otras zonas de muestreo del ecosistema Almendares. De manera conjunta, se recomienda en estudios posteriores que exista la comparación con la especie *G. punctata* que habita en el ecosistema acuático Filé de Santiago de Cuba, pues se

considera como referencia ambiental no antropogénica a la exposición de metales pesados (Argota *et al.*, 2012).

Se concluye, que desde la gnoseología en este estudio hubo bioacumulación de Pb y Cd en el cerebro de los individuos de la especie *G. punctata*. Tal presencia indicó, que el medio acuático mostró condiciones favorables para su biodisponibilidad. La bioacumulación al plomo fue similar en ambos sexos, aunque existió mayor bioacumulación al cadmio en las hembras. Sin embargo, la bioacumulación del plomo y cadmio no se relacionaron de modo perjudicial con el tamaño cerebral.

Author contributions: CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

GAP = George Argota-Pérez
RFD = Rigoberto Fimia-Duarte
JI = José-Iannacone
RAG = Rafael Armiñana-García
ROR = Ricardo Osés-Rodríguez

Conceptualization: GAP, JI

Data curation: GAP, RFD

Formal Analysis: GAP, RFD, JI

Funding acquisition: GAP

Investigation: GAP, RFD, JI, RAG, ROR

Methodology: GAP, RFD, JI, RAG, ROR

Project administration: GAP

Resources: GAP

Software: GAP, JA

Supervision: GAP, RFD, JI

Validation: GAP, JI

Visualization: GAP, JI

Writing – original draft: RFD, RAG, ROR

Writing – review & editing: GAP, JI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Khalek, A.A., Badran, S.R., & Marie, M.A.S. (2020). The efficient role of rice husk in reducing the toxicity of iron and aluminum oxides nanoparticles in *Oreochromis niloticus*: hematological, bioaccumulation, and histological endpoints. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231, 1-15.
- Ahmed, M.K., Baki, M.A., Islam, M.S., Kundu, G.K., Habibullah-Al-Mamun, M., Sarkar, S.K., & Hossain, M.M. (2015). Human health risk assessment of heavy metals in tropical fish and shellfish collected from the river Buriganga, Bangladesh. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 15880-15890.
- Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal Chemistry*, 2019, 1-14.
- Argota, P.G., & Iannacone, J. (2022). Extracción cerebral en el biorregulador larvario *Gambusia punctata* (Poey, 1854): aspectos técnicos de investigación. *Neotropical Helminthology*, 16, 1-6.

- Argota, P.G., Argota, C.H., Larramendi., G.D., Mora, T.Y., Fimia, D.R., & Iannacone, O.J. (2012). Histología y química umbral de metales pesados en hígado, branquias y cerebro de *Gambusia punctata* (Poeciliidae) del río Filé de Santiago de Cuba. *Revista Electrónica Veterinaria*, 13, 1-11.
- Argota, P.G., Argota, C.H., & Iannacone, O.J. (2016). Exposición bioacumulativa en las especies *Gambusia punctata* y *Gambusia puncticulata* del ecosistema Almendares, La Habana-Cuba. *The Biologist (Lima)*, 14, 339-350.
- Argota, P.G., Escobar, M.F., & Moreno, T.E.G. (2020a). Calidad estacionaria del agua ante el costo ambiental sostenible relativo con agregación de biomarcadores: Bahía de Puno, lago Titicaca, Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 22, 146-154.
- Argota, P.G., Fimia, D.R., Iannacone, J., & Alarcón-Elbal, PM. (2020b). Crecimiento ante la respuesta visual y regímenes prolongados de alimentación en el biorregulador larval de mosquitos *Gambusia punctata* Poey, 1854. *Neotropical Helminthology*, 14, 111-116.
- Argota, P.G., Iannacone, J., Fimia, D.R. & Óses, R.R. (2022). Velocidad de desplazamiento-captura de alimento y bioacumulación a cadmio en la espina vertebral de *Gambusia punctata* (Poey, 1854). *Revista Neotropical Helminthology*, 16, 29-36.
- Argota, P.G., Iannacone, J., & Fimia, D.R. (2019). Exposición ecotoxicológica al plomo en sedimentos e influencia del factor de bioconcentración ante la variación de la temperatura sobre la actividad acetilcolinesterasa cerebral en la especie *Gambusia punctata*. *The Biologist (Lima)*, 17, 315-325.
- Argota, P.G., Pérez, A.I.Y., Iannacone, J., Alvaríño, L., & Fimia, D.R. (2018). Comportamiento de refugio y actividad de la acetilcolinesterasa cerebral en *Gambusia punctata* (Poey, 1854) (Poeciliidae) por plomo biodisponible. *The Biologist (Lima)*, 16, 171-179.
- Cheghib, Y., Chouahda, S., & Soltani, N. (2020). Side-effects of a neonicotinoid insecticide (actara) on a non-target larvivorous fish *Gambusia affinis*: Growth and biomarker responses. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46, 167-172.
- Dambach, P. (2020). The use of aquatic predators for larval control of mosquito disease vectors: Opportunities and limitations. *Biological Control*, 150, 1-33.
- Díaz, R.O., Olivares, R.S., Gelen, R.A., D'Alessandro, R.K., Lima, C.L., García, C.D., Casanova, D.A.O., García, T.C., & Manduca, A.M. (2019). *Estudios de contaminación ambiental en La Habana mediante técnicas nucleares y conexas*. *Nucleus*, 66, 58-65.
- Elleuch, B., Bouhamed, F., Elloussaief, M., Jaghbir, M. (2018). Environmental sustainability and pollution prevention. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 18223-18225.
- Espinosa, R.G., Costilla, S.R., Pérez, V.F.J, González, D.J., Flores, R.R., Cuevas-Díaz, S.M.C., Medellín, G.C.E., & Ilizaliturri, H.A. (2019). DNA damage in earthworms by exposure of persistent organic pollutants in low basin of Coatzacoalcos River, Mexico. *Science of the Total Environment*, 651, 1236-1242.
- Fimia, D.R., Iannacone, J., Alarcón, E.P.M., Hernández, C.N., Armiñana, G.R., Cepero, R.O., Cabrera, G.A.M., & Zaita, F.Y. (2016). Potencialidades del control biológico de peces y copépodos sobre mosquitos (Diptera: Culicidae) de importancia higiénica-sanitaria en la provincia Villa Clara, Cuba. *The Biologist (Lima)*, 14, 371-386.
- Gachelin, G., Garner, P., Ferroni, E., Verhave, J.P., & Opinel, A. (2018). Evidence and strategies for malaria prevention and control: a historical analysis. *Malaria Journal*, 17, 1-18.
- Handy, R.D., Clark, N.J., Boyle, D., Vassallo, J., Green, C., Nasser, F., Botha, T.L., Wepener, V., van den Brink, N.W., & Svendsen, C. (2022). The bioaccumulation testing strategy for nanomaterials: correlations with particle properties and a meta-analysis of in vitro fish alternatives to in vivo fish tests. *Environmental Science: Nano*, 9, 684-701.
- Larrea, M.J.A., Romeu, A.B., Lugo, M.D., & Rojas, B.M.M. (2022). Aspectos fundamentales del monitoreo de calidad de las aguas: el río almendares como caso de estudio. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 53, 148-159.
- López, P.M., Varela, Z., Franco, D., Fernández, J.A., & Aboal, J.R. (2020). Can proteomics contribute to biomonitoring of aquatic pollution? A critical review. *Environmental Pollution*, 267, 1-12.

- McPeck, M. (1992). Mechanisms of sexual selection operating on body size in the mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Behavioral Ecology*, 3, 1-12.
- Meffe, K.G., & Snelson, Jr., F.F. (1989). An ecological overview of poeciliid fishes. In: Meffe, K.G., Snelson Jr., F.F. (Eds.), *Ecology and Evolution of Livebearing Fishes (Poeciliidae)*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, (pp.13-31).
- Moiseenko, T.I., & Gashkina, N.A. (2020). Distribution and bioaccumulation of heavy metals (Hg, Cd and Pb) in fish: Influence of the aquatic environment and climate. *Environmental Research Letters*, 15, 1-20.
- Monteiro, D.A., Thomaz, J.M., Rantin, F.T., & Kalinin, A.L. (2013). Cardiorespiratory responses to graded hypoxia in the neotropical fish matrinxã (*Brycon amazonicus*) and traíra (*Hoplias malabaricus*) after waterborne or trophic exposure to inorganic mercury. *Aquatic Toxicology*, 140, 346-355.
- Nagelkerken, I., & Connell, S.D. (2015). Global alteration of ocean ecosystem functioning due to increasing human CO₂ emissions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 13272-13277.
- Ng, D.Q., Chu, Y., Tan, S.W., Wang, S.L., Lin, Y.P., Chu, C.H., Soo, Y.L., Song, Y.F., & Chem, P.J. (2019). In vivo evidence of intestinal lead dissolution from lead dioxide (PbO₂) nanoparticles and resulting bioaccumulation and toxicity in medaka fish. *Environmental Science: Nano*, 6, 580-591.
- Ponce de León, G.J.L., & Rodríguez, S.R. (2010). *Peces cubanos de la familia Poeciliidae*. Guía de campo. Editorial Academia.
- Ramesh, M., Thilagavathi, T., Rathika, R., & Poopal, R.K. (2018). Antioxidant status, biochemical and hematological responses in a cultivable fish *Cirrhinus mrigala* exposed to an aquaculture antibiotic sulfamethazine. *Aquacultura*, 491, 10-19.
- Rasmussen, K., Rauscher, H., Kearns, P., González, M., & Riego, S.J. (2019). Developing OECD test guidelines for regulatory testing of nanomaterials to ensure mutual acceptance of test data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 104, 74-83.
- Reznick, D. (1990). Plasticity in age and size at maturity in male guppies (*Poecilia reticulata*): an experimental evaluation of alternative models of development. *Journal of Evolutionary Biology*, 3, 185-203.
- Rodrigues, S., Antunes, S.C., Correia, A.T., Golovko, O., Žlábek, V., & Nunes, B. (2018). Assessment of toxic effects of the antibiotic erythromycin on the marine fish gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by a multi-biomarker approach. *Chemosphere*, 216, 234-247.
- Stearns, S.C. (1983). The evolution of life history traits in mosquitofish since their introduction to Hawaii in 1905: Rates of evolution heritabilities development plasticity. *American Zoology*, 23, 65-75.
- Suárez, G.O., Valcarce, O.R.Ma., Vega, C.M., & Rodríguez, M.W. (2021). Riesgo de contaminación de las aguas subterráneas en la cuenca Almendares-Vento, Cuba. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 42, 154-176.
- Sun, T.Y., Bornhöft, N.A., Hungerbühler, K., & Nowack, B. (2016). Dynamic probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Science & Technology*, 50, 4701-4711.
- Utembe, W., Wepener, V., Yu, I.J., & Gulumian, M. (2018). An assessment of applicability of existing approaches to predicting the bioaccumulation of conventional substances in nanomaterials. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37, 2972-2988.
- Vinagre, C., Costa, M.J., Wood, S.A., Williams, R.J., & Dunne, J.A. (2019). Potential impacts of climate change and humans on the trophic network organization of estuarine food webs. *Marine Ecology Progress Series*, 616, 13-24.

Received March 18, 2023.

Accepted May 11, 2023.