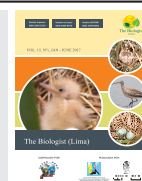


*The Biologist (Lima)*, 2017, 15(1), jan-jun: 141-153.



## The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### PREDICTING QUANTITATIVE HISTORICAL RISK BETWEEN IMPACTED ECOSYSTEMS AND OF ENVIRONMENTAL REFERENCE BY PERMANENT USE OF BIOMARKERS AS NEW CRITERIA FOR BIOMONITORS IN AQUATIC ECOTOXICOLOGY

### PREDICCIÓN CUANTITATIVA DE RIESGO HISTÓRICO ENTRE ECOSISTEMAS IMPACTADOS Y DE REFERENCIA AMBIENTAL MEDIANTE USO PERMANENTE DE BIOMARCADORES COMO NUEVO CRITERIO PARA BIOMONITORES EN ECOTOXICOLOGÍA ACUÁTICA

George Argota-Pérez<sup>1</sup> & José Iannacone<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Avanzadas y formación Superior en Educación, Salud y Medio Ambiente "AMTAWI", Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), Perú.

<sup>3</sup> Laboratorio de Cordados. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP), Perú.  
Correo electrónico: [george.argota@gmail.com](mailto:george.argota@gmail.com)/[joseiannacone@gmail.com](mailto:joseiannacone@gmail.com)

## ABSTRACT

There are certain selection criteria for biomonitors in aquatic ecotoxicology but it does not mean they are unique and invariable. The objective of the research was to quantitatively predict the historical risk between impacted ecosystems and environmental reference by permanent use of biomarkers as a new criterion in aquatic ecotoxicological biomonitors. We evaluated during 2012-2016 the behavior of *Gambusia punctata* living in the San Juan, Cuba ecosystem, which was compared to the same species that inhabit the Almendares and Filé ecosystems, being used latter on condition of environmental reference located in the Republic of Cuba. The quantitative prediction of historical risk was indicated through bioaccumulation of Cu, Zn, Pb and Cd in gills as a biomarker of exposure, while acetylcholinesterase activity, biological condition factor and the number of females with incubatory chamber were considered effect biomarkers. The quantitative prediction of risk according to historical monitoring showed that there were statistically significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between the *G. punctata* of San Juan and the species that inhabits the Almendares only in the bioaccumulation of metals and for all biomarkers in comparison to the one that lives in the Filé ecosystem, being considered negative impact level. It was concluded that the quantitative prediction of historical risk between the impacted ecosystems of San Juan and Almendares in relation to the Filé ecosystem through the permanent use of biomarkers was used as a new criterion to stop biomonitoring in aquatic ecotoxicology.

**Keywords:** biomarkers – biomonitors – aquatic ecotoxicology – *Gambusia punctata* – quantitative prediction of risk

## RESUMEN

Existen determinados criterios de selección para biomonitores en ecotoxicología acuática pero no significan que sean únicos e invariables. El objetivo de la investigación fue predecir cuantitativamente el riesgo histórico entre ecosistemas impactados y de referencia ambiental mediante uso permanente de biomarcadores como nuevo criterio para biomonitores en ecotoxicología acuática. Se evaluó durante el 2012 hasta 2016, el comportamiento de la *Gambusia punctata* que habita en el ecosistema San Juan, Cuba la cual se comparó con la misma especie pero que habita en los ecosistemas Almendares y Filé, siendo usado este último en condición de referencia ambiental localizados en la República de Cuba. La predicción cuantitativa de riesgo histórico se indicó, a través de la bioacumulación de Cu, Zn, Pb y Cd en branquias como biomarcador de exposición, mientras que la actividad acetilcolinesterasa, factor de condición biológico y el número de hembras con cámara incubatriz se consideraron como biomarcadores de efecto. La predicción cuantitativa de riesgo según el monitoreo histórico, arrojó que existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre la *G. punctata* del San Juan y la especie que habita en el Almendares solo en la bioacumulación de metales y para todos los biomarcadores en comparación a la que habita en el ecosistema Filé, estimándose nivel de impacto negativo. Se concluyó que, la predicción cuantitativa de riesgo histórico entre los ecosistemas impactados San Juan y Almendares con relación al ecosistema Filé mediante uso permanente de biomarcadores se utilizó como nuevo criterio para biomonitores en ecotoxicología acuática.

**Palabras claves:** biomarcadores – biomonitores – ecotoxicología acuática – *Gambusia punctata* – predicción cuantitativa de riesgo

## INTRODUCCIÓN

En ecotoxicología acuática, diversos cambios biológicos que expresan los organismos, poblaciones o comunidades sirven como señales de posible alteración ambiental ocasionado por lo principal, a partir de actividades antropogénicas (Jebali *et al.*, 2013; Manrique *et al.*, 2013). Cada nivel de respuesta biológica, representa un signo integrado de los niveles de contaminación en un área determinada y de esta manera, auxilia como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural está siendo expuesta (Orrego *et al.*, 2005).

Todo ente biológico, tiene la capacidad potencial de ofrecer una respuesta ante cualquier estímulo que se presentan en el medio, pero cualquiera de la(s) respuesta(s), puede variar en forma correlacionada, si el organismo es considerado bioindicador o biomonitor, siendo esta última condición más reflexiva para "explicar" la calidad ambiental de los ecosistemas, ya que los biomonitores poseen mayores ventajas interpretativas (Birungi *et al.*, 2007; Price, 2007; Jebali *et al.*, 2013). Asimismo, no solo es importante el uso de biomonitores como herramientas predictivas, pues según Eissa *et al.*

(2003), Papis *et al.* (2011) y Werner & Hitzfeld (2012), las nuevas tendencias en los estudios ambientales de la ecotoxicología como rama encargada de evaluar y regular los efectos de los contaminantes sobre las poblaciones en el tiempo, está relacionada con el uso de biomarcadores donde a nivel de ecosistema acuático, Zhou *et al.* (2008), Sisino & Oliveira (2013), refieren que los peces constituyen excelentes organismos de utilización como biomonitores para los protocolos de evaluación ecotoxicológica (Heidary *et al.*, 2012; Al-Ghais, 2013; Jebali *et al.*, 2013; Çiftçi *et al.*, 2015).

Rosenberg & Pesh (1993), Sloof (1993) y Díaz (1995), indican que existen siete criterios de selección para considerar a un biomonitor y donde mencionan que éstos corresponden a: 1ro) tener distribución cosmopolita, 2do) ser de fácil identificación taxonómica, 3ro) tamaño apropiado presentado, 4to) movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo, 5to) ser tolerante a la contaminación, 6to) presentar fácil manejo para estudios de laboratorios; y 7mo) debe existir correlación entre el contaminante de interés y el resto de las matrices ambientales.

Una de las especies que ha sido seleccionada como biomonitor en ecotoxicología acuática en Cuba por

cumplir con los siete criterios mencionados anteriormente, fue *Gambusia punctata* (Poey, 1854) (Argota *et al.*, 2013a), pero es necesario mencionar que algunos estudios en diferentes ecosistemas durante cierto periodo de tiempo y que han podido ser comparados mediante la utilización con esta especie (Argota *et al.*, 2012; Argota *et al.*, 2013c,d; Argota & Iannacone, 2016a,b), hacen mostrar e indicar que otro juicio o criterio de evaluación para estimar con mayor precisión el grado de influencia y perturbación generado en los ecosistemas acuáticos sobre posibles daños ocasionados a las poblaciones que en ellos habitan, pudiera incorporarse.

El objetivo de la investigación fue realizar una comparación histórica entre ecosistemas impactados y de referencia ambiental mediante uso permanente de biomarcadores como nuevo criterio para biomonitores en ecotoxicológica acuática ambiental.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en época de lluvia (LL) y estiaje (E) durante cinco años transcurridos desde el 2012 hasta el 2016 donde se utilizó, a la especie *G. punctata* quien habita en los ecosistemas San Juan (Santiago de Cuba) (ecosistema impactado) y Filé (Santiago de Cuba) (condición de referencia ambiental), así como en el Almendares (La Habana) (ecosistema impactado).

Fue medido como biomarcador de exposición la disponibilidad bioacumulativa de Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias (se realizó en forma de pool sin diferenciación por sexo), mientras que, la actividad acetilcolinesterasa, factor de condición biológico y la presencia de hembras con cámara incubatriz se reconocieron como biomarcadores de efecto, respectivamente.

La determinación de los metales en el órgano fue por vía húmeda y su cuantificación se realizó mediante espectrometría por plasma inductivamente acoplado vía axial según la metodología reportada por Argota *et al.* (2013b).

Para analizar la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, las muestras fueron

homogeneizadas en tampón Tris-HCl 0,1 M, Triton 0,1%, pH 8 en la proporción de 1 mL por 0,5 g de tejido y centrifugado a 1000 rpm, durante 12 min (Ellman & Courtney, 1961). Para la actividad de la AChE cerebral se utilizó como sustrato, acetiltiocolina yodada y la detección de la liberación de tiocolina por reacción con 5,5-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico). Después de 5 min se registró la actividad mediante un espectrofotómetro (Perkin-Elmer UV/VIS) a 410 nm. La actividad se expresó como  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de tejido y se realizaron todos los análisis por duplicado.

El análisis del desarrollo de los peces se realizó mediante el factor de condición biológico (FCB) para ambos sexos, el cual fue calculado mediante la fórmula establecida por Ricker (1975) y Rodríguez (1992):

$$\text{FCB} = \text{Pt} / \text{Lt}^3 * 100$$

Dónde:

- Pt: peso total.
- Lt: longitud total.

Para analizar la reproducción se consideró, únicamente el número de hembras con presencia de cámara incubatriz.

La predicción cuantitativa de riesgo fue establecida mediante la fórmula:

$$\text{Pcr} = \text{P} + \text{V}$$

Dónde:

- Pcr = predicción cuantitativa de riesgo
- P = peligro
- V\* = vulnerabilidad

(\*) Se atribuyó a suposiciones de condiciones sobre parámetros físico-químicos de calidad de agua.

El cumplimiento de la bioética para la investigación sobre la *G. punctata*, consistió en aplicar la eutanasia mediante la preparación de bolsas esterilizadas con hielo depositadas en diferentes recipientes de cristal, procurando que durante la inmersión de los ejemplares, éstos fueran tranquilizados por hipotermia inmediata, inhibiéndose toda función biológica que permitió realizar la disección y extracción de los órganos dianas para su análisis.

Para el tratamiento de los resultados se aplicaron como métodos estadísticos el análisis de la

varianza factorial con réplicas para definir las fuentes de variación significativas y la prueba de intervalos múltiples de Duncan para determinar las magnitudes individuales de las diferencias que resulten significativas según lo expresado por Montgomery (1991). Todos los cálculos se realizaron utilizando el software profesional Statgraphics (Statpoint Technologies, 1994-2001), donde los resultados se consideraron significativos a un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, puede mostrarse las determinaciones de metales pesados en las branquias de los organismos pertenecientes a cada ecosistema y periodo por año.

En la tabla 2, puede mostrarse la concentración media de la colinesterasa cerebral en los organismos por cada ecosistema, periodo y año.

**Tabla 1.** Metales pesados (ppm) por ecosistemas / periodo / año en las branquias.

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

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

**Tabla 2.** Concentración media de acetilcolinesterasa cerebral (U/L) / ecosistemas y periodo / año.

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

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

En la tabla 3, puede mostrarse el factor de condición biológico determinado en los organismos por cada ecosistema, periodo y año.

En la tabla 4, pueden mostrarse el número de hembras con presencia de cámara incubatriz por cada ecosistema, periodo y año.

**Tabla 3.** Factor de condición biológico / ecosistemas y periodo / año.

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

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

**Tabla 4.** Hembras con presencia de cámara incubatriz / ecosistemas y periodo / año.

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

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

Eason & O'Halloran (2002) señalan que los biomarcadores en ecotoxicología al ser medidos sobre especies centinelas, son necesarios realizarlos siguiendo protocolos éticos de estudio. Para la especie *G. punctata*, una vez aplicada la eutanasia y asegurando que cada ejemplar no fue sometido a juicio de dolor se procedió luego, al análisis de los biomarcadores, siendo notable señalar que aquellas hembras que se encontraban en el estadio con presencia de la cámara incubatriz (medida de reproducción), una vez capturadas e identificadas en el jamo de muestreo profesional, fueron incorporadas de forma inmediata a cada ecosistema de procedencia. No se consideró importante en esta investigación hacer comparaciones y tratar mediante discusiones cada uno de los biomarcadores con los valores de referencia, ya que indicaría no solo el posible nivel

de contaminación existente, sino de igual forma, cómo están influyendo las condiciones del medio sobre la etología animal, pues lo esencial y objetivo era mostrar la posibilidad de medir cada biomarcador de manera sistemática. Sin embargo, podría resultar de interés referir que algunas comparaciones entre biomarcadores (perteneciente a cada uno de los ecosistemas), arrojaron diferencias estadísticamente significativas (concentración media de acetilcolinesterasa cerebral,  $F=117158843.40$ ,  $p \leq 0,05$ ; hembras con presencia de cámara incubatriz,  $F=303948.24$ ,  $p \leq 0,05$ ).

En las tablas 5 y 6, se muestran las diferencias según valor de los biomarcadores entre los ecosistemas.

**Tabla 5.** Prueba múltiple de rangos para la concentración media de acetilcolinesterasa cerebral / ecosistemas y periodo/año.

	Casos	Media	Grupos Homogéneos																	
F 2016 E	12	449,31	X																	
F 2012 L1	12	449,76	X																	
F 2013 E	12	450,19	X																	
F 2016 L1	12	450,58	X																	
F 2012 E	12	451,06	X																	
F 2015 E	12	451,27	X																	
F 2014 E	12	451,33	X																	
F 2013 L1	12	452,20	X																	
F 2014 L1	12	452,83	X																	
F 2015 L1	12	453,66	X																	
A 2014 E	12	548,42	X																	
A 2014 L1	12	553,91	X																	
A 2012 L1	12	555,33	X																	
SJ 2013 L1	12	556,34	X																	
A 2012 E	12	558,49	X																	
SJ 2014 E	12	559,87	X																	
SJ 2013 E	12	559,87	X																	
SJ 2012 L1	12	560,21	X																	
SJ 2012 E	12	562,45	X																	
SJ 2015 L1	12	566,98	X																	
SJ 2014 L1	12	568,66	X																	
SJ 2016 L1	12	569,37	X																	
A 2015 L1	12	570,06	X																	
SJ 2015 E	12	571,12	X																	
A 2013 L1	12	572,36	X																	
A 2016 L1	12	573,25	X																	
SJ 2016 E	12	573,35	X																	
A 2013 E	12	574,66	X																	
A 2015 E	12	577,82	X																	
A 2016 E	12	578,16	X																	

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

Orrego *et al.* (2005) y Öztürk *et al.* (2009), plantean que cada nivel de respuesta biológica como puede ser medida mediante biomarcadores, representa una señal integrada de los niveles de contaminación en un área ambiental (ejemplo; un ecosistema) y de esta forma, funciona como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural está siendo expuesta. En tal sentido, las evaluaciones permitieron analizar cada estado ambiental ecosistémico, ya que una primera

seguridad en la toma de decisiones radica en el carácter sistemático de medición, pues de lo contrario, resultará más complejo entender cualquier anomalía de efecto indirecto que se produzca en determinado momento, debido a que en condiciones naturales, cualquier factor biótico como abiótico puede influir no solo sobre los ecosistemas, también en las poblaciones que lo integran y estos factores, no siempre se presentan de forma cíclica (Yi & Zhang, 2012).

**Tabla 6.** Prueba múltiple de rangos para el factor de condición biológico / ecosistemas y periodo / año.

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

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

Para muchas investigaciones científicas, según Moriarty (1983), el único acercamiento realista a la ecotoxicología acuática, consiste en realizar estudios continuados fuera del ecosistema. La información que se reúne es muy representativa de ese estudio pero inestimable de la naturaleza, ya que los estudios de laboratorio, no estiman la calidad de los ambientes pues no pueden establecer comparaciones inter-estación, inter-ecosistemas o poder seguir algún indicador que se desarrolle a medio o largo plazo (Hellawell, 1986; Hერიks *et al.*, 1989), unido a que las identificaciones y

descripciones de factores naturales, hace extraordinariamente muy difícil formular hipótesis interpretativas, debido a sus propias variaciones, aunque los estudios a nivel de laboratorio como indican Joern & Hoagland (1996), constituyen un marco de referencia para la distribución y destino de los contaminantes dentro del compartimento hacia la biota por influencia de factores abióticos.

Asumiendo que, la presencia Cu, Zn, Pb y Cd en las branquias, obedecieron a condiciones de disponibilidad en la matriz agua o fueron re-

suspendidos desde la matriz sedimentos, indicaría que la calidad ambiental como ecosistema en algún momento, no fue aceptada y aún permanece invariable, ya que los resultados históricos lo demuestran. Si ello es así, puede mostrarse lo siguiente:

- a) Presencia de calidad ambiental del agua no aceptada, por cuanto existió condiciones de inseguridad medida como vulnerabilidad para que determinadas propiedades de algunos elementos (ej.: metales pesados) se hayan expresado toxicológicamente.
- b) Si la  $Pcr = P + V$ , donde  $V$  ha sido comunicada como no aceptada, entonces la predicción de riesgo cuantitativo fue de tipo alto, ya que  $V$ , es directamente proporcional a  $Pcr$ . Esto se señala mediante la determinación por bioacumulación de  $Cu$ ,  $Zn$ ,  $Pb$  y  $Cd$  en las branquias de los peces. Del mismo modo, si  $P$  es atribuido a la presencia de estos metales en las branquias de los peces, es porque hubo condiciones que lo propiciaron, es decir, en algún momento, la calidad del ecosistema razonablemente fue vulnerable.
- c) Si se asume que en términos de magnitud de riesgo (Argota & Iannacone, 2014), el mismo fue de tipo leve donde existen daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos no sistémicos (bioacumulación solo en branquias), es porque hubo probabilidad de riesgo medio (daños de ocurrencia en determinadas ocasiones) x consecuencia baja (respuesta biológica poco comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos) o probabilidad de riesgo bajo (daños de ocurrencia raras veces) x consecuencia media (respuesta biológica comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos). Sin embargo, podría pensarse en una magnitud de riesgo de tipo moderada (daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos que conducen a una o determinadas pérdidas donde comienza a comprometerse la vida de los organismos) y en este sentido, puede entenderse la presencia baja de hembras con cámara incubatriz como que la

reproducción estuvo disminuyendo y por tanto, fue perjudicada la población de individuos.

Las demostraciones anteriores, sugieren que aplicando los métodos teóricos por modelación o sistemático, es posible predecir cuantitativamente el riesgo en determinado periodo de tiempo, así como presumir tendencias de comportamientos biológicos y ello significa, una de las ventajas en los estudios e investigaciones con medición *in-situ*. En la presente investigación, a partir de la posibilidad que se tuvo sobre este tipo de medición mediante el uso de biomarcadores puede permitirse luego, no solo la evaluación en condiciones de control (Yi & Zhang, 2012), sino establecer determinadas interacciones e influencias entre los biomarcadores para tenerse o alcanzarse mayores predicciones.

Rawson (1991) y Páez & Osuna (2011), señalaron que los estudios *in-situ*, ofrecen como ventajas tanto el avance, desarrollo y aplicación de últimas tecnologías como biosensores para supervisar posibles cambios en el medioambiente por contaminantes específicos, además, de la utilización de organismos biomonitores en la valoración de los efectos funcionales en los ecosistemas contaminados (Castañe *et al.*, 2013), así como también los resultados que se obtienen pueden correlacionarse con la determinación de parámetros físico-químicos proporcionando ciertas e incuestionables evidencias del grado de deterioro en los ecosistemas, indicando en última instancia, cuáles son los contaminantes responsables de las afectaciones (Heidary *et al.*, 2012). Es por ello que, considerando la presencia de metales pesados como elementos tóxicos dada su bioacumulación, pueden presentarse diversos efectos desde el nivel celular hasta organismo y población, donde se ha podido observar mediante las comparaciones entre los ecosistemas San Juan y Almendares con el Filé, diferencias estadísticamente significativas, lo cual evidencia que se produjeron efectos adversos (Castañe *et al.*, 2013).

Rainbow (1995), mencionó que los niveles de metales disueltos en los ecosistemas acuáticos, pueden variar apreciablemente en el tiempo, ya sea por las emisiones de las fuentes antropogénicas o las propias estaciones climáticas, de ahí la



necesidad de realizar programas de monitoreo intensos para lograr resultados fidedignos, de manera que, en la presente investigación se siguió tal recomendación, pues al determinarse niveles de bioacumulación en un periodo histórico de cinco años, entonces se señala que los metales pesados disueltos estuvieron biodisponible; y por tanto, con alcance ecotoxicológico (Camacho-Sánchez, 2007; Castañe *et al.*, 2013).

En ocasiones, las concentraciones de metales pesados en los componentes abióticos como la matriz agua se encuentran por debajo del límite de detección de las técnicas analíticas, por lo que hace muy difícil realizar estudios de comparación inter-estaciones o inter-ecosistemas (Ramelow *et al.*, 1989) y en este sentido, utilizar organismos propios de los ecosistemas evaluados como biomonitores permite entonces, realizar estas comparaciones brindando, algunas informaciones complementarias (Martin & Coughtrey, 1990; Market *et al.*, 1997; Camacho-Sánchez, 2007). La utilización de la especie *G. punctata* en su condición de biomonitor posibilitó de este modo, comparar biomarcadores entre los tres ecosistemas en estudio.

Seleccionar para el monitoreo las branquias de los peces resulta necesario, ya que no solo es un órgano blanco, sino además diana, pues al estar muy vascularizado, pueden aparecer varios daños morfológicos cuando las condiciones del medio presentan variaciones no deseadas (Castañe *et al.*, 2013). Según Bernet *et al.* (2004), dentro de éstos daños se encuentran respuestas proliferativas que generan deformación y fusión de las lamelas, necrosis, apoptosis celular y pseudoepitelización. Los daños mencionados, pueden tener algún tipo de implicación sobre el sistema nervioso central y donde determinadas actividades enzimáticas pueden verse afectadas. Una de estas enzimas y que sirve como biomarcador ante el posible efecto negativo es la acetilcolinesterasa, por tal razón fue medida en la investigación (Vidal, 2005; Carvalho *et al.*, 2013; Assis *et al.*, 2015). La acetilcolinesterasa (AChE, EC 3.1.1.7) es una enzima crucial para el desarrollo y el funcionamiento del sistema nervioso y presenta un papel importante en la diferenciación hematopoyética y en el desarrollo neural. Su función clásica es modular el impulso nervioso a través de la hidrólisis del neurotransmisor

acetilcolina en la hendidura sináptica (Assis *et al.*, 2015). La acetilcolinesterasa puede ser empleada como un biomarcador en peces no solo para demostrar la presencia de plaguicidas organofosforados y carbámicos, sino para indicar la presencia de metales pesados (Carvalho *et al.*, 2013; Santillán-Calzada *et al.*, 2016). Se ha observado una tendencia a aumentar la AChE en diversos tejidos de peces en ecosistemas impactados por metales pesados (Carvalho *et al.*, 2013). Sin embargo, otros autores señalan modelos variables de aumento o disminución de la AChE, dependiendo de la duración de la exposición y del tipo de tejido involucrado en los peces (Balambigni & Aruna, 2011; Richetti *et al.*, 2011; Al-Ghais 2013).

Por otra parte, el crecimiento de los peces dependerá en gran medida de la intensidad metabólica dentro de la población, siempre que el complejo corriente de energía (en la cadena trófica), factores físicos y las acciones recíprocas con otras poblaciones lo permitan. Las condiciones del medio constituyen una de las razones fundamentales que regulan el crecimiento y cuando este se encuentra alterado o en desequilibrio, entonces influye de manera directa en el crecimiento y desarrollo (Odum, 1986; Heidary *et al.*, 2012). Una medida de poder evaluar el crecimiento y desarrollo, fue mediante el factor de condición biológico, pues según Egea *et al.* (2002), la evolución en este biomarcador, pone de manifiesto la tendencia de los organismos a recuperar sus pesos corporales y cuando no se alcanza se indica, el índice de adelgazamiento sufrido bajo cualquier situación estresante del medio (Heidary *et al.*, 2012; Yi & Zhang, 2012). Kasimoglu (2014), encontró relaciones negativas entre el factor de condición en peces y metales trazas esenciales.

Finalmente, el género *Gambusia* es un organismo oportunista, el cual se alimenta de gran variedad de presas, donde se incluyen zooplancton, insectos acuáticos, caracoles, algas, huevos y larvas de anfibios y peces (García, 1999). Su elevada voracidad motivó a introducirlos como agente biológico para el control de vectores infecciosos al hombre pero esta función trófica puede estar disminuida cuando las condiciones ambientales son desfavorables (Offill & Walton, 1999). Asimismo, al limitarse el patrón trófico, puede

tener consecuencias sobre la reproducción, pues como conducta natural, indica la perpetuación de las especies o el reflejo de expansión poblacional, siendo igualmente limitada según las condiciones ambientales del medio, influyendo hasta la propia supervivencia de la especie (Lee, 2000; Argota *et al.*, 2013c).

Particularmente, los biomarcadores de efectos constituyen valiosos indicadores de sustancias exógenas presentes o cambios biológicos como respuestas a distintos xenobióticos (West *et al.*, 2006), aunque debe igualmente reconocerse, la utilidad sobre los biomarcadores de efecto en cualquier programa de vigilancia y control ambiental, por cuanto se concluyó que, la comparación entre los ecosistemas perturbados San Juan y Almendares con relación al Filé utilizado en condición de referencia ambiental durante un periodo histórico sistemático no menor a cinco años mediante uso de biomarcadores, fue considerado como nuevo criterio para biomonitores en ecotoxicología acuática ambiental.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Ghais, S.M. 2013. Acetylcholinesterase, glutathione and hepatosomatic index as potential biomarkers of sewage pollution and depuration in fish. *Marine Pollution Bulletin*, 74: 183-186.
- 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 REDVET*, 13(05B).
- Argota, P.G.; Iannacone, O.J.; & Fimia, D.R. 2013a. Características de *Gambusia punctata* (Poeciliidae) para su selección como biomonitor en ecotoxicología acuática en Cuba. *The Biologist* (Lima), 11: 229-236.
- Argota, P.G.; Argota, C.H.; Rodríguez, A.J. & Fernández, H.A. 2013b. Determinación de Cu, Zn, Pb y Cd por espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado en órganos de la especie *Gambusia punctata* (Poeciliidae). *Revista Cubana Química*, 25: 92-99.
- Argota, P.G.; Fimia, D.R.; & Iannacone, O.J. 2013c. Análisis reproductivo y trófico en la *Gambusia punctata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) del río San Juan. *Revista electrónica veterinaria REDVET*, 14(6).
- Argota, P.G.; Argota, C.H.; & Fimia, D.R. 2013d. Biomarcadores en la especie *Gambusia punctata* (Poeciliidae) dada las condiciones ambientales del ecosistema San Juan. *Revista electrónica veterinaria REDVET*, 14(6).
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. 2014. Similitud en la predicción de riesgo ecológico entre el Software Gecotox y biomarcadores en *Gambusia punctata* (Poeciliidae). *The Biologist* (Lima), 12: 85-98.
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. 2016a. Costo ambiental sostenible relativo dado la variabilidad físicoquímica de las aguas sobre la disponibilidad de metales en el ecosistema San Juan, Santiago de Cuba-Cuba. *The Biologist* (Lima), 14: 219-232.
- Argota, P.G.; Argota, C.H. & Iannacone, O.J. 2016b. Exposición bioacumulativa en las especies *Gambusia punctata* y *Gambusia puncticulata* del ecosistema Almendares, La Habana-Cuba. *The Biologist* (Lima), 14: 339-350.
- Assis, C.R.D.; Linhares, A.G.; Oliveira, V.M.; França, R.C.P.; Santos, J.F.; Carvalho, V.M.M.E.; Bezerra, R.S. & Carvalho Jr., L.B. 2015. Effect of ions on the activity of brain acetylcholinesterase from tropical fish. *Journal of Coastal Life Medicine*, 3: 505-514.
- Balambigni, N. & Aruna, D. 2011. Impact of copper sulphate, an essential micronutrient on Ach, AChE and Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase in various tissues of the fish *Cyprinus carpio* (L.). *Research Journal of Environmental Toxicology*, 5: 141-146.
- Bernet, D.; Schmidt, H.; Wahli, T. & Burkhardt, P. 2004. Evaluation of two monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alterations in fish. *Hydrobiologia*; 524: 53-66.
- Birungi, Z.; Masola, B.; Zaranyika, M.F.; Naigaga, I. & Marshall, B. 2007. Active biomonitoring

- of trace heavy metals using fish (*Oreochromis niloticus*) as bioindicator species. The case of Nakivubo wetland along Lake Victoria. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 32: 15-18.
- Camacho-Sánchez, M.I. 2007. Bioconcentración y toxicidad de metales en el langostino *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Revista de Toxicología*, 24: 14-17.
- Carvalho, S.J.; Menezes, M.S. & Guimaraes, A.T.B. 2013. Analysis of Cholinesterase enzyme activity in *Rinelocaria kronei* from coastal rivers in Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 8: 87-92.
- Castañe, P.M.; Eissa, B.L. & Ossana, N.A. 2013. Respuesta de biomarcadores bioquímicos, morfológicos y comportamentales de la carpa común, *Cyprinus carpio*, por exposición a muestras ambientales. *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, 8: 41-47.
- Çiftçi, N.; Ay, Ö.; Karayakar, F.; Cıçık, B. & Erdem, C. 2015. Effects of zinc and cadmium on condition factor, hepatosomatic and gonadosomatic index of *Oreochromis niloticus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24: 1-4.
- Díaz, M.M. 1995. Biomonitoring en sistemas lénticos: El uso de especies indicadoras. *Zoología informa*, 31: 17-35.
- Eason, C. & O'Halloran, K. 2002. Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment. *Toxicology*, 181-182: 517-521.
- Eissa, B.; Salibián, A.; Ferrari, L.; Porta, P. & Borgnia, M. 2003. Evaluación toxicológica no invasiva del cadmio: modificaciones de biomarcadores conductuales en *Cyprinus carpio*. *Biología Acuática*, 20: 56-62.
- Egea, M.A.; Rueda, G.F.; Martínez, L. & García, G.B. 2002. Efecto de la realimentación tras un período de ayuno sobre el crecimiento en el Sargo picudo *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 18: 357-362.
- Ellman, G.L. & Courtney, K.D. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7: 88-95.
- García, B.E. 1999. Food of introduced mosquitofish: ontogenetic diet shift and prey selection. *Journal of Fish Biology*, 55: 135-147.
- Heidary, S.; Imanpour Namin, J. & Monsefrad F. 2012. Bioaccumulation of heavy metals Cu, Zn, and Hg in muscles and liver of the stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) in the Caspian Sea and their correlation with growth parameters. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11: 325-337.
- Hellawell, J.M. 1986. *Biological indicators of freshwater pollution and environmental management*. Amsterdam: Elsevier.
- Herriks, E.E.; Schaeffer, D.J. & Perry, J.A. 1989. *Biomonitoring: closing the loop in the environmental sciences*. In: *Ecotoxicology: Problems and Approaches* (Levin, S.A.; Harwell, M.A.; Kelly, J.R. & Kimball, K.D. eds). New York: Springer-Verlag. pp.351-366.
- Jebali, J.; Khedher, S.B.; Sabbagh, M.; Kamel, N.; Banni, M. & Boussetta, H. 2013. Cholinesterase activity as biomarker of neurotoxicity: utility in the assessment of aquatic environment contamination. *Journal of Integrated Coastal Zone Management*, 13:525-537.
- Joern, A. & Hoagland, K.D. 1996. In defense of hole-community bioassays for risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 407-409.
- Kosimoglu, C. 2014. The effect of fish size, age and condition factor on the contents of seven essential elements in *Anguilla anguilla* from Tersakan stream Mugla (Turkey). *Journal of Pollution Effects & Control*, 2: 1000123.
- Lee, D.K. 2000. Predation efficacy of the fish muddy loach, *Misgurnus mizolepis*, against *Aedes* and *Culex* mosquitoes laboratory and small rice plots. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 16: 258-261.
- Manrique, W.G.; Figueiredo, M.A.P. & Machado, N.J.G. 2013. Dissipation and environmental risk of fipronil on aquatic environment. *The Biologist (Lima)*, 11: 107-117.
- Market, B.; Pedrozo, F. & Geller, W. 1997. A contribution to the study of the heavy-metal and nutritional element status of some lakes in the southern Andes of Patagonia (Argentina). *The Science of the Total Environment*, 206: 1-15.
- Martin, M.H. & Coughtrey, P.J. 1990. *Land and*

- Air*. Applied Science Publishers. London and New York.
- Montgomery, C. 1991. *Diseño y Análisis de Experimentos*. Grupo Ed. Iberoamérica S.A de C.V. México DF.
- Moriarty, F. 1983. *Ecotoxicology: the study of pollutants in ecosystems*. London: Academic Press.
- Odum, E.P. 1986. *Ecología*. 3<sup>ra</sup> ed. Barcelona: Editorial Vedral. 476 p.
- Offill, A. & Walton, W. 1999. Comparative Efficacy of the Threespine Stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and the Mosquitofish (*Gambusia affinis*) for Mosquito Control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15: 380-390.
- Orrego, R.; Moraga, C.G.; González, M.; Barra, R. & Valenzuela, A. 2005. Reproductive, physiological, and biochemical responses in juvenile female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sediment from pulp and paper mill industrial discharge areas. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24: 1935-1943.
- Öztürk, M.; Özözen, G.; Minareci, O. & Minareci, E. 2009. Determination of heavy metals in fish, water and sediments of Avsar Dam Lake in Turkey. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 6: 73-80.
- Papis, E. & Awadhes, N.J. 2011. Relative sensitivity of fish and mammalian cells to the antibiotic, trimethoprim: cytotoxic and genotoxic responses as determined by neutral red retention, Comet and micronucleus assays. *Ecotoxicology*, 20: 208-217.
- Páez, O.F. & Osuna, M.C. 2011. Biomonitores de la contaminación costera con referencia a las costas mexicanas: una revisión sobre los organismos utilizados. *Hidrobiológica*, 21: 229-238.
- Price, D.J. 2007. *Use of in-situ fish populations for biomonitoring polychlorinated biphenyl and metal pollution in moderately impacted freshwater streams*. University of Kentucky Doctoral Dissertations. Paper 556.
- Rainbow, P.S. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 183-192.
- Ramelow, G.J.; Webre, C.L.; Mueller, C.L.; Beck, J.N.; Young, J.C. & Langley, M.P. 1989. Variations of heavy metals and arsenic in fish and other organisms from the Calcasien River and Lake, Louisiana. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology*, 18: 804-818.
- Rawson, D.M. 1991. *Bioprobes and biosensors*. In: *Handbook of Ecotoxicology* (Calow, P. (ed)). London: Blackwell. pp. 428-437.
- Roesijadi, G. & Robinson, W.E. 1994. *Metal regulation in aquatic animals: mechanism of uptake, accumulation and release*. In: Malins, D.C. & Ostrander, G.K. (Eds.), *Aquatic Toxicology Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*. Lewis Publishers, London.
- Richetti, S.K.; Roseberg, D.B.; Ventura-Lima, J.; Monserrat, J.M.; Bogo, M.R. & Bonan, C.D. 2011. Acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of zebrafish brain is altered by heavy metal exposure. *NeuroToxicology*, 32: 116-122.
- Ricker, W. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin Fisheries Research. Board of Canada*, 191: 1-382.
- Rodríguez, M. 1992. *Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces*. Primera edición. A.G.T. Ed. S.A. México, DF.
- Rosenberg, D.M. & Pesh, W.H. 1993. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman & Hall. New York. 488 p.
- Santillán-Calzada, M.; Toledo-Ibarra, G.A.; Navidad-Murrieta, S.M.; Santillán-Ortega, C.; Martínez-Cárdenas, L.; Alejo-Santiago, G. & Girón-Pérez, M.I. 2016. Evaluación de acetilcolinesterasa en peces poecílicos como biomarcador de exposición a plaguicidas en el río San Pedro Mezquital, Nayarit. *Revista Bio Ciencias*, 3 (Supl.): 24.
- Sisinnio, C.L. & Oliveira, F.E.C. 2013. *Principios de Toxicología Ambiental*. Ed. Interciência. Rio de Janeiro. pp 216.
- Sloof, J.E. 1993. *Environmental Lichenology biomonitoring trace element air pollution*. Delft University of technology.
- Statgraphics Plus for Windows: SGPW. 2001. Version 5.1. Copyright 1994-2001 for Statistical Graphics Corporation.
- Vidal, C.J. 2005. Expression of cholinesterases in

- brain and non brain tumor. *Chemico-Biological Interactions*, 157-158, 227-232.
- Werner, I. & Hitzfeld, B. 2012. 50 years of ecotoxicology since Silent Spring – A review. *Gaia*, 3: 217-225.
- West, D.W.; Ling, N.; Hicks, B.J.; Tremblay, L.A.; Kim, N.D. & Van den Heuvel, M.R. 2006. Cumulative impacts assessment along a large river, using brown bullhead catfish (*Ameiurus nebulosus*) populations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1868-1880.
- Yi, Y.J. & Zhang, S.H. 2012. The relationships between fish heavy metal concentrations and fish size in the upper and middle reach of Yangze river. *Procedia Environmental Science*, 13: 1699-1707.
- Zhou, Q.; Zhang, J.; Fu, J.; Shi, J. & Jiang, G. 2008. Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, 606: 35-150.

Received February 15, 2017.

Accepted March 30, 2017.