

The Biologist (Lima), 2019, 17(2), jul-dic: 315-325.



The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

ECOTOXICOLOGICAL EXPOSURE TO LEAD IN SEDIMENTS AND INFLUENCE OF BIOCONCENTRATION FACTOR BEFORE TEMPERATURE VARIATION ON BRAIN ACETILCOLINESTERASE IN THE SPECIES *GAMBUSIA PUNCTATA*

EXPOSICIÓN ECOTOXICOLÓGICA AL PLOMO EN SEDIMENTOS E INFLUENCIA DEL FACTOR DE BIOCONCENTRACIÓN ANTE VARIACIÓN DE TEMPERATURA SOBRE LA ACETILCOLINESTERASA CEREBRAL EN LA ESPECIE *GAMBUSIA PUNCTATA*

George Argota-Pérez¹ & José Iannacone^{2,3}

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

² Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima-Perú. ³ Laboratorio de Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). joseiannacone@gmail.com
Corresponding author: george.argota@gmail.com

ABSTRACT

Chemical elements such as lead can re-suspend from the sediment to the water column and when this matrix reaches a certain temperature, it affects some tissues in the fish. The aim of study was to determine the ecotoxicological exposure to lead in sediments and influence of the bioconcentration factor before the temperature variation on the brain acetylcholinesterase enzyme in the species *Gambusia punctata* (Poey, 1854). In two fish tanks, concentrations of total Pb were tested, placing 10 previously acclimatized individuals without feeding to analyze the influence of two temperature treatments (20 and 25°C) on cerebral acetylcholinesterase activity according to concentrations exposed to lead, which was determined by plasma spectrometry Inductively coupled with axial view, while enzymatic activity was recorded by UV-visible spectrophotometry. The sediments did not show lead values above the permissible levels, although there were statistically significant differences between the seasons. A higher bioconcentration factor was observed at 25°C, as well as elevated levels of cerebral acetylcholinesterase at the temperature itself. It was concluded that the concentrations of lead in sediments did not represent an ecotoxicological risk, although they caused unwanted levels of cerebral acetylcholinesterase when there were bioconcentration effects at elevated temperatures.

Keywords: bioaccumulation – cerebral acetylcholinesterase – fish – metals – sediments – temperature

RESUMEN

Elementos químicos como el plomo pueden re-suspender desde el sedimento hacia la columna de agua y cuando esta matriz alcanza determinada temperatura, afecta algunos tejidos en los peces. El objetivo del estudio fue determinar la exposición ecotoxicológica al plomo en sedimentos e influencia del factor de bioconcentración ante la variación de temperatura sobre la enzima acetilcolinesterasa cerebral en la especie *Gambusia punctata*. En dos peceras fueron ensayadas concentraciones de Pb total, ubicándose 10 individuos previamente aclimatados y sin alimentación para analizar la influencia de dos tratamientos de temperatura (20 y 25°C) sobre la actividad acetilcolinesterasa cerebral según concentraciones expuestas al plomo, quien se determinó por espectrometría de plasma inductivamente acoplado con vista axial, mientras que la actividad enzimática se registró mediante espectrofotometría UV-visible. Los sedimentos no presentaron valores de plomo por encima de los niveles permisibles, aunque hubo diferencias estadísticamente significativas entre las estaciones. Se observó, mayor factor de bioconcentración a 25°C, así como niveles elevados de acetilcolinesterasa cerebral a la propia temperatura. Se concluyó que, las concentraciones de plomo en sedimentos no representaron riesgo ecotoxicológico, aunque ocasionaron niveles de acetilcolinesterasa cerebral no deseada cuando existieron efectos de bioconcentración a temperaturas elevadas.

Palabras clave: bioacumulación – acetilcolinesterasa cerebral – peces – metales – sedimentos – temperatura

INTRODUCCIÓN

La gran preocupación sobre los metales pesados es que no son biodegradables (Qadir & Malik, 2011), pudiendo bioacumularse en los organismos inferiores y posteriormente, biomagnificarse (Molina *et al.*, 2012), ocasionando riesgos irreparables en la salud humana (Han *et al.*, 2016).

Los metales pueden movilizarse hacia los sedimentos debido a las corrientes de agua; y a su propio peso. Skalak *et al.* (2016) señalaron que la variabilidad hidrogeológica puede contribuir a una redistribución de los sedimentos, así como un ciclo biogeoquímico alterado en la interfase agua-sedimento donde Li & Cai (2015), indican que varios contaminantes, incluyendo los metales pueden quedar retenidos. Entre las preocupaciones ambientales sobre los ecosistemas acuáticos cuando los sedimentos retienen metales pesados está dada por la movilidad ambiental y su toxicidad. La retención no necesariamente significa que sea permanente, debido a que podrían re-suspender hacia la columna de agua ocasionando efectos a corto y largo plazo sobre la biodiversidad (Ghosh *et al.*, 2011). En el caso de la toxicidad puede atribuirse a la biodisponibilidad

del metal aunque es un fenómeno complejo, pues diversos factores influyen como es el pH, contenido de carbono, dureza y alcalinidad del agua, oxígeno disuelto, niveles de sulfuros, carbonatos, óxidos Fe-Mn entre otros (Hou *et al.*, 2013).

Uno de los metales más tóxicos en los ambientes acuáticos es el plomo y donde presenta gran estabilidad química ante los procesos de biodegradación por cuanto, los seres vivos son incapaces de metabolizarlos de modo que, se genera una contaminación por bioacumulación y un efecto multiplicador en la concentración del contaminante en la cadena trófica donde el plomo se absorbe muy eficientemente y al atravesar membranas biológicas tiene elevada afinidad química por el grupo sulfidrilo de las proteínas, generando alta toxicidad (Mancera & Álvarez, 2006). El Pb, es el metal tóxico más extendido y presente en casi todos los compartimentos ambientales. Bloquea la transmisión del impulso nervioso y la liberación de acetilcolina, posee incluso gran afinidad por las mitocondrias e inhibe la fosforilación oxidativa. Su exposición produce anemia como resultado de dos efectos básicos, los cuales están relacionados con la disminución de la longevidad de los glóbulos rojos e inhibición

enzimática que intervienen en la síntesis de hemoglobina (Norberg, 2009).

La exposición al Pb afecta órganos como el cerebro (Antonio & Massó, 2008) pudiendo apreciarse de forma temprana los daños, a través de concentraciones no deseadas en la enzima acetilcolinesterasa (AChE) (Agrawal *et al.*, 2015).

Vidal (2005), refiere que en humanos los cambios en niveles de AChE se han reportado en varias enfermedades neuro-degenerativas como alzheimer, parkinson y miastenia gravis entre otras. De igual modo, indica que la actividad de AChE se ha encontrado incrementada en meningiomas, astrocitomas y tumores de glioblastoma donde su patrón de isoformas es diferente al de tejido sano. Igualmente menciona, que se han observado alteraciones en la expresión de la AChE en diferentes tumores, amplificación de genes de AChE en leucemias, tumores de ovario y en la agresividad de astrocitomas, evidenciando su participación en la tumorigénesis, de manera que estos estudios sugieren que la AChE está involucrada en la regulación del ciclo celular. Los efectos en los cambios de la enzima AChE dada la exposición al plomo, por lo general está ocasionado cuando este elemento se encuentra en forma biodisponible (Xia *et al.*, 2018).

Para evaluar la biodisponibilidad de los metales en sitios específicos del ecosistema (Ej.: agua o sedimentos) se han desarrollado métodos y modelos químicos entre los que se encuentran la extracción secuencial, muestreadores pasivos y modelos bióticos (Tessier *et al.*, 1979; Niyogi & Wood, 2004; Davison & Zhang, 2012). La tendencia de toda regulación ambiental está sobre la necesidad de desarrollar métodos para conocer la biodisponibilidad, ya que permiten evaluar el riesgo ecológico en los ecosistemas (Merrington *et al.*, 2017). Sin embargo, no siempre existen condiciones analíticas para realizar especificaciones y por tanto, diversos estudios han estado basados en la determinación de contenidos totales (Väänänen *et al.*, 2016).

Por otra parte, para predecir el riesgo por exposición a metales en los ecosistemas acuáticos es necesario la utilización de organismos como los peces, ya que son uno de los primeros en ser empleados por los protocolos de evaluación

ecotoxicológica (Çiftçi *et al.*, 2015), unido a su condición de centinelas en cualquier estudio ambiental (Argota *et al.*, 2013b; AbdAllah, 2017).

Cada nivel o diversos cambios biológicos que expresan los peces, constituyen señales de posible alteración antropogénica y de esta forma, auxilia como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural puede estar expuesta, pues todo ente biológico tiene la capacidad potencial de ofrecer 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 mejores ventajas interpretativas (Jebali *et al.*, 2013; Cassanego *et al.*, 2015).

La variación en algunos parámetros físico-químicos de calidad del agua y entre ellos la temperatura, condiciona a la sensibilidad biológica, debido a que no solo genera estados hipóxicos (Kalogianni *et al.*, 2017), sino biodisponibilidad en órganos dianas de metales (ej.: plomo), que pueden alterar niveles enzimáticos en hígado, músculo y cerebro (Argota *et al.*, 2013a).

Para la evaluación temprana sobre posibles efectos ante la exposición al plomo dada la alteración de registros en parámetros físico-químicos como la temperatura (Hansen & Unruh (2017) señalan que pueden ser utilizados bioensayos para estimar las probabilidades de afectaciones; y por ende, describir posibles respuestas fisiológicas.

La especie *Gambusia punctata* (Poey, 1954), ha sido utilizada como biomonitor ante la exposición a metales en los ecosistemas acuáticos de Cuba pudiéndose describir diversos daños mediante el uso de biomarcadores (Argota & Iannacone, 2018).

El objetivo del estudio fue determinar la exposición ecotoxicológica al plomo en sedimentos y la influencia del factor de bioconcentración ante variación de la temperatura sobre la acetilcolinesterasa cerebral en la especie *G. punctata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la cuenca hidrográfica San Juan, Santiago de Cuba-Cuba durante el periodo de estiaje del 2016. Fueron seleccionadas mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, seis estaciones de muestreo correspondientes a la parte baja de la cuenca hidrográfica. Conjuntamente, se consideró para la selección de las estaciones, estado de convergencia tributaria o zona de mezcla, condiciones prácticas de accesibilidad al lugar, posibilidad de muestreo en ambas orillas del río principal, profundidad, existencia de construcciones cercanas o accidentes geográficos del relieve muy llamativos que pudieran servir

como puntos de referencia.

Para la determinación de plomo en sedimentos se realizó previamente un muestreo utilizando una draga Ekman. Luego se conservaron en bolsas de nylon y secados a temperatura del ambiente. Para el análisis del plomo se pesó 2,0g de sedimento seco, realizando una digestión ácida HCl: HNO₃ y calentando la muestra a una temperatura de 180°C hasta obtener sales húmedas. La cuantificación se realizó mediante Espectrometría de Absorción Atómica por Plasma Inductivamente Acoplado con Vista Axial (ICP-AES) de la firma alemana Spectro-Arco. Para la veracidad de los resultados se controlaron interferencias analíticas significativas (Tabla 1).

Tabla 1. Control de interferencias en la determinación de metales.

Espectrales	No espectrales
Emisión interferente	Uso de adición de estándar
Absorción de fondo	Superficie del tubo de grafito
Corrección de las interferencias espectrales	Palaforma L'vov
Corrección de fondo automática por el instrumento	Máximo poder atomización

Para determinar el factor de bioconcentración se colocaron en dos peceras con réplicas 10 individuos, los cuales fueron previamente aclimatados 24 h antes del estudio sin alimentación. Las réplicas representaron dos tratamientos de temperatura, 20 y 25°C. Una de las réplicas se utilizó para medir la concentración bioacumulada del Pb, a nivel de organismo durante siete días de experimentación.

Se controló la temperatura utilizando el termómetro de marca: TDS Meter 3 - Digital Water Quality Tester mientras que, la medición del Pb total fue por ICP-AES, a través de una digestión ácida (Argota *et al.*, 2016).

Con las determinaciones de Pb total en el agua y a nivel de organismo se determinó el factor de bioconcentración, el cual consistió en calcular un cociente entre las concentraciones del tejido y concentraciones en la matriz agua.

La actividad acetilcolinesterasa cerebral se midió, a partir de muestras de cerebro homogenizadas en tampón TRIS/HCL 0,1 M, 0,1% Triton pH-8 en la proporción de 1ml por 0,5g de tejido,

centrifugándose a 1000 rpm por 12 min. Se utilizó como sustrato, acetiltiocolina yodada y la detección de la liberación de tiocolina por reacción con 5,5-dithiobis (ácido 2-nitrobenzoico).

Después de un periodo de 5 min, fue monitoreada y registrada la actividad mediante un espectrofotómetro (Perkin-Elmer Uv/VIS) a 410nm. La actividad se expresó como $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{mg}$ de tejido, realizándose todos los análisis por triplicado. El tiempo de reacción fue medido por el cronómetro marca Casio Collection-Digital: HS-3V-1RET.

Para el tratamiento de los resultados se aplicó como métodos estadísticos, el análisis de la varianza factorial y el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para conocer, cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Se utilizó para el tratamiento estadístico de los datos el software profesional Epidat 4,2 donde los resultados se consideraron significativos a un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

Se muestra las concentraciones totales del Pb en los sedimentos correspondientes a cada estación de muestreo (Tabla 2). Los promedios determinados,

no superaron el valor permisible según la norma ambiental utilizada. Sin embargo, existió diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las concentraciones halladas al compararse cada estación de muestreo (Tabla 3).

Tabla 2. Concentraciones promedio de plomo total en sedimentos ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$).

estación de muestreo	concentración
1	0,041 \pm 0,022
2	0,042 \pm 0,017
3	0,044 \pm 0,019
4	0,058 \pm 0,021
5	0,002 \pm 0,02
6	0,049 \pm 0,018

Referencia * 35

* ISQG (por sus siglas en inglés, Interim Sediment Quality Guideline): Guía Provisional de Calidad del Sedimento

Tabla 3. Análisis de la varianza y prueba de contraste múltiple de rangos / Pb / FV = fuente de variación / SC = suma de cuadrados / gl = grados de libertad / CM = cuadrado medio / F = Fisher / p = probabilidad / LSD = menor diferencia estadística de Fisher.

FV	SC	gl	CM	coeficiente F	valor-P
Entre grupos	0,005602	5	0,0011204	1120,40	0,0000
Intra grupos	0,000012	12	0,000001		
Total (Corr.)	0,005614	17			

pruebas de múltiple rangos (LSD)			
Estación	réplica	promedio	grupos homogéneos
5		0,002	x
1		0,041	x
2	3	0,042	x
3		0,044	x
6		0,049	x
4		0,058	x

La tabla 4 muestra las concentraciones de Pb en el agua donde existió diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al transcurrir los días para

los dos tratamientos de temperaturas ensayadas (Tabla 5 y 6).

Tabla 4. Concentración de Pb en el agua y tratamientos de temperatura.

días	Temperatura (°C)	
	20	25
1	3,5	3,4
2	3,3	3,1
3	2,97	2,88
4	2,69	2,55
5	2,54	2,32
6	2,38	2,11
7	2,15	1,96

Tabla 5. Análisis de la varianza según concentración de Pb en el agua y tratamientos de temperatura / FV = fuente de variación / SC = suma de cuadrados / gl = grados de libertad / CM = cuadrado medio / F = Fisher / p = probabilidad / LSD = menor diferencia estadística de Fisher.

FV	SC	gl	CM	coeficiente F	valor-P
Entre grupos	9,74496	13	0,749613	255,97	0,0000
Intra grupos	0,082	28	0,00292857		
Total (Corr.)	9,82696	41			

Tabla 6. Procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher según Pb en el agua y tratamientos de temperatura

nivel / tratamiento	media	grupos homogéneos	nivel / tratamiento	media	grupos homogéneos
D 7 - 20	2,15	x	D 7 - 25	1,96	x
D 6 - 20	2,38	x	D 6 - 25	2,11	x
D 5 - 20	2,54	x	D 5 - 25	2,32	x
D 4 - 20	2,69	x	D 4 - 25	2,55	x
D 3 - 20	2,97	x	D 3 - 25	2,88	x
D 2 - 20	3,30	x	D 2 - 25	3,10	x
D 1 - 20	3,50	x	D 1 - 25	3,40	x

La tabla 7 muestra las concentraciones de Pb en el organismo donde existió igualmente, diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) al transcurrir los días para los dos tratamientos de temperaturas ensayadas (Tabla 8 y 9).

Tabla 7. Concentración de Pb en el organismo / tratamientos de temperatura.

días	Temperatura (°C)	
	20	25
1	0,02	0,07
2	0,08	1,05
3	1,17	1,42
4	1,73	1,96
5	2,46	2,88
6	2,91	3,37
7	3,24	3,48

Tabla 8. Análisis de la varianza según concentración de Pb a nivel de organismo y tratamientos de temperatura / FV = fuente de variación / SC = suma de cuadrados / gl = grados de libertad / CM = cuadrado medio / F = Fisher / p = probabilidad / LSD = menor diferencia estadística de Fisher.

FV	SC	gl	CM	coeficiente F	valor-P
Entre grupos	61,2592	13	4,71225	47122,48	0,0000
Intra grupos	0,0028	28	0,0001		
Total (Corr.)	61,262	41			

Tabla 9. Procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher según Pb a nivel de organismo y tratamientos de temperatura

nivel / tratamiento	media	grupos homogéneos	nivel / tratamiento	media	grupos homogéneos
D1 Bc - 20	0,02	x	D1 Bc - 25	0,07	x
D2 Bc - 20	0,08	x	D2 Bc - 25	1,05	x
D3 Bc - 20	1,17	x	D3 Bc - 25	1,42	x
D4 Bc - 20	1,73	x	D4 Bc - 25	1,96	x
D5 Bc - 20	2,46	x	D5 Bc - 25	2,88	x
D6 Bc - 20	2,91	x	D6 Bc - 25	3,37	x
D7 Bc - 20	3,24	x	D7 Bc - 25	3,48	x

La tabla 10 muestra el factor de bioconcentración determinado para ambos tratamientos de temperatura donde resultó mayor a 25°C existiendo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para ambos tratamientos de temperatura al transcurrir los días (Tabla 11 y 12).

Tabla 10. Factor de bioconcentración.

días	Temperatura (°C)	
	20	25
1	0,006	0,02
2	0,02	0,34
3	0,39	0,49
4	0,64	0,77
5	0,97	1,24
6	1,22	1,60
7	1,50	1,77

Tabla 11. Análisis de la varianza según el factor de bioconcentración / FV = fuente de variación / SC = suma de cuadrados / gl = grados de libertad / CM = cuadrado medio / F = Fisher / p = probabilidad / LSD = menor diferencia estadística de Fisher.

FV	SC	gl	CM	coeficiente F	valor-P
Entre grupos	14,4473	13	1,11133	11958,94	0,0000
Intra grupos	0,002602	28	0,0000929286		
Total (Corr.)	14,4499	41			

Tabla 12. Procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para el factor de bioconcentración

nivel / tratamiento	media	grupos homogéneos
D1 FBC - 20	0,006	x
D1 FBC - 25	0,02	x
D2 FBC - 20	0,02	x
D2 FBC - 25	0,34	x
D3 FBC - 20	0,39	x
D3 FBC - 25	0,49	x
D4 FBC - 20	0,64	x
D4 FBC - 25	0,77	x
D5 FBC - 20	0,97	x
D6 FBC - 20	1,22	x
D5 FBC - 25	1,24	x
D7 FBC - 20	1,5	x
D6 FBC - 25	1,6	x
D7 FBC - 25	1,77	x

Se muestra, las concentraciones de AChE-cerebral según la temperatura ensayo tanto en el grupo control como experimental (Tabla 13).

Se muestra, el resumen estadístico de la actividad AChE-cerebral en el grupo control como experimental (Tabla 14).

Tabla 13. AChE-cerebral / T = temperatura.

Tratamientos	AChE-cerebral ($\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{mg}$)	T (°C)
grupo control	127,36 \pm 13,44	25
grupo experimental	331,29 \pm 11,38	25

Tabla 14. Resumen estadístico de la AChE-cerebral

Estadísticos	AChE control	AChE experimental
promedio	127,36	331,29
desviación estándar	1,0	1,0
coeficiente de variación	0,785176%	0,30185%
sesgo estandarizado	0,0	0,0

Dado que el sesgo estandarizado para ambas determinaciones se encontró entre -2 a +2, pudo indicarse que las distribuciones de los datos correspondieron a la normalidad, lo cual no invalidó la prueba de comparación de medias para la AChE-cerebral y concentración de PbCl_2 . AChE-cerebral ($t = -249,762$; $P = 1,54167E-9$).

La presencia de metales tóxicos en el medioambiente procede de fuentes naturales y antropogénicas. Las fuentes antropogénicas de metales tóxicos incluyen principalmente: actividades agrícolas (Calmano *et al.*, 1993) e industriales (Carvalho *et al.*, 2012) donde las descargas de estas fuentes contaminantes resultan por lo general, muy significativas (Reddy *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014).

Los metales una vez que se generan, pueden llegar hasta los ecosistemas acuáticos y como resultado de la sedimentación de partículas, alcanzan acumularse en los sedimentos de fondo (Yanbin & Yong, 2015); sin embargo, en este estudio los resultados determinados, arrojaron que no existan deposiciones acumulativas en la matriz sedimentaria, ya que los valores fueron aceptados por cuanto no representan, riesgo ambiental para el ecosistema, aunque hubo variabilidad comparativa entre las concentraciones por estaciones.

Se encontró mayor factor de bioconcentración en el tratamiento experimental a 25°C, así como los mayores niveles de concentración para la enzima acetilcolinesterasa en esta propia temperatura. Biol *et al.* (2013), indicaron que incrementos en la temperatura provoca efectos deletéreos y depresión metabólica en organismos acuáticos. Por su parte, Madeira *et al.* (2013) señalaron que incrementos en la temperatura provocan cambios notorios a nivel de tejido como afectación en el sistema antioxidante. Aunque no se relacionó el efecto de la temperatura con estos marcadores, pudo evidenciarse la asociación a 25°C de la temperatura con la bioacumulación del plomo donde quizás, el efecto correlacional hizo que se elevara las concentraciones de la AChE-cerebral.

Luísa *et al.* (2017) mencionaron que el cerebro puede verse afectado con un aumento de la temperatura y donde se inhiben determinadas enzimas como la glutatión-S-transferasa, superóxido transferasa, además, de la acetilcolinesterasa. En este estudio la AChE-cerebral elevó sus concentraciones, pudiendo indicar que posiblemente, hubo algún tipo de daño orgánico, aunque no fue realizada una prueba histológica para corroborarlo.

La exposición a compuestos aromáticos policíclicos y los pesticidas en las aguas pueden

provocar disminución de la AChE-cerebral en peces (Oropesa *et al.*, 2007; Topal *et al.*, 2017), también los metales como el plomo, muestra un alto factor de bioconcentración (José *et al.*, 2017), pudiendo corroborarse lo planteado, en este estudio.

Se concluyó que, las concentraciones de plomo en sedimentos al no superar el valor permisible, el riesgo ecotoxicológico para el ecosistema fue bajo. Sin embargo, las concentraciones ensayadas a las dos temperaturas de tratamiento, indicaron alto factor de bioconcentración, siendo mayor a 25°C generando, niveles no deseados de acetilcolinesterasa cerebral.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AbdAllah, A.T. 2017. Efficiency of invertebrate animals for risk assessment and biomonitoring of hazardous contaminants in aquatic ecosystem, a review and status report. *Environment, Risk assessment and Remediation*, 1: 22–24.
- Agrawal, S., Bhatnagar, P. & Flora, S.J.S. 2015. Changes in tissue oxidative stress, brain biogenic amines and acetylcholinesterase following co-exposure to lead, arsenic and mercury in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 86: 208–216.
- Antonio, G.M.T. & Massó, G.E.L. 2008. Toxic effects of perinatal lead exposure on the brain of rats: Involvement of oxidative stress and the beneficial role of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2089–2095.
- Argota, P.G. & Iannacone, O.J. 2018. Ecotoxicología como rama predictiva sobre la evolución sostenible de los ecosistemas acuáticos. *The Biologist (Lima)*, 15: 165–174.
- Argota, P.G.; Argota, C.H. & Fimia, D.R. 2013a. Biomarcadores en la especie *Gambusia punctata* (Poeciliidae) dada las condiciones ambientales del ecosistema San Juan. *Revista electrónica veterinaria Redvet*, 14: 1–12.
- Argota, P.G.; Iannacone, O.J. & Fimia, D.R. 2013. 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. & Iannacone, O.J. 2016. Exposición bioacumulativa a metales pesados en *Gambusia punctata* y *Gambusia puncticulata* del ecosistema Almendares, La Habana-Cuba. *The Biologist (Lima)*, 14: 339–350.
- Biol, M.; Aure, M.; Rita, A.; Marta, L.; Tiago, S.P. & Miguel, R. 2013. Physiological and behavioral responses of temperate seahorses (*Hippocampus guttulatus*) to environmental warming. *Marine Biology*, 160: 2663–2670.
- Calmano, W.; Hong, J. & Forstner, U. 1993. Binding and mobilization of heavy-metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Science and Technology*, 28: 223–235.
- Carvalho, P.C.S.; Neiva, A.M.R. & Silva, M.M.V.G. 2012. Assessment to the potential mobility and toxicity of metals and metalloids in soils contaminated by old Sb–Au and As–Au mines (NW Portugal). *Environmental Earth Sciences*, 65: 1215–1230.
- Cassanego, M.B.B.; Sasamori, M.H.; Petry, C.T. & Droste, A. 2015. Biomonitoring the genotoxic potential of the air on *Tradescantia pallida* var. *purpurea* under climatic conditions in the Sinos River basin, Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 75: 79–87.
- 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: 3871–3874.
- Davison, W. & Zhang, H. 2012. Progress in understanding the use of diffusive gradients in thin films (DGT) – back to basics. *Environmental Science and Pollution Research*, 9: 1–13.
- Ghosh, U.; Luthy, R.G.; Cornelissen, G.; Werner, D. & Menzie, C. 2011. *In-situ* sorbent amendments: a new direction in contaminated sediment management. *Environmental Science & Technology*, 45: 1163–1168.
- Han, W.; Fu, F.; Cheng, Z.; Tang, B. & Wu, S. 2016.

- Studies on the optimum conditions using acidwashed zero-valent iron/aluminum mixtures in permeable reactive barriers for the removal of different heavy metal ions from wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 302: 437–446.
- Hansen, P. & Unruh, E. 2017. Whole-cell biosensors and bioassays. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 77: 1–19.
- Hou, D.; He, J.; Lü, C.; Ren, L.; Fan, Q.; Wang, J. & Xie, Z. 2013. Distribution characteristics and potential ecological risk assessment of heavy metals (Cu, Pb, Zn, Cd) in water and sediments from Lake Dalinouer, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93: 135–144.
- Jebali, J.; Khedher, S.; Sabbagh, M.; Kamel, N.; Banni, M. & Boussetta, H. 2013. Cholinesterase activity as biomarker of neurotoxicity: utility in the assessment of aquatic environment contamination. *Revista de Gestão Costeira Integrada*, 13: 525–537.
- José, P.; Filho, S., Caldas, J.S.; Nunes, N.; Osvaldo, F. & Pereira, P. 2017. Toxicity test and Cd, Cr, Pb and Zn bioaccumulation in *Phalloceros caudimaculatus*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4: 206–211.
- Kalogianni, E.; Vourka, A.; Karaouzas, I.; Vardakas, L. & Skoulikidis, N.T. 2017. Combined effects of water stress and pollution on macroinvertebrate and fish assemblages in a Mediterranean intermittent river. *Science of the Total Environment*, 603: 639–650.
- Li, Y. & Cai, Y. 2015. Mobility of toxic metals in sediments: assessing methods and controlling factors. *Journal of Environmental Sciences*, 31: 203–205.
- Luísa, A.; Barbosa, V.; Alves, R.; Custódio, A.; Anacleto, P.; Repolho, T.; Pousão, F.P.; Rosa R.; Marques, A. & Diniz, M. 2017. Ecophysiological responses of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*) exposed to increased temperature and dietary methylmercury. *Science of the Total Environment*, 586: 551–558.
- Madeira, D.; Narciso, L.; Cabral, H.N.; Vinagre, C. & Diniz, M.S. 2013. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 166: 237–243.
- Mancera, R.N.J. & Álvarez, L.R. 2006. Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 11: 3–23.
- Merrington, G.; Peters, A.; Whitehouse, P.; Clarke, R. & Merckel, D. 2017. Delivering environmental benefit from the use of environmental quality standards: why we need to focus on implementation. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 3053–3059.
- Molina, C.I.; Ibañez, C. & Gibon, F.M. 2012. Proceso de biomagnificación de metales pesados en un lago hiperhalino (Poopó, Oruro, Bolivia): Posible riesgo en la salud de consumidores. *Ecología en Bolivia*, 47: 99–118.
- Niyogi, S. & Wood, C.M. 2004. Biotic ligand model, a flexible tool for developing site specific water quality guidelines for metals. *Environmental Science & Technology*, 38: 6177–6192.
- Norberg, G.F. 2009. Historical perspective on cadmium toxicology. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238: 192–200.
- Oropesa, A.; Pérez, M.; Hernández, D.; García, J.; Fidalgo, L.; López, B.; A. & Soler, F. 2007. Acetylcholinesterase activity in seabirds affected by the Prestige oil spill on the Galician coast (NW Spain). *Science of the Total Environment*, 372: 532–538.
- Qadir, A. & Malik, R.N. 2011. Heavy metals in eight edible fish species from two polluted tributaries (Aik and Palkhu) of the river Chenab, Pakistan. *Biological Trace Element Research*, 143: 1524–1540.
- Reddy, M.V.; Babu, K.S.; Balaram, V. & Satyanarayanan, M. 2012. Assessment of the effects of municipal sewage, immersed idols and boating on the heavy metal and other elemental pollution of surface water of the eutrophic Hussainsagar Lake (Hyderabad, India). *Environmental Monitoring and Assessment*, 184: 1991–2000.
- Skalak, K.; Benthem, A.; Hupp, C.; Schenk, E.; Galloway, J. & Nustad, R. 2016. Hydrogeomorphology-ecology interactions

- in river systems. *River Research and Application*, 22: 1085–1095.
- Tessier, A.; Campbell, P.G.C. & Bisson, M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace-metals. *Analytical Chemistry*, 51: 844–851.
- Topal, A.; Alak, G.; Ozkaraca, M.; Yaltekın, A.C.; Comalklı, S.; Acil, G.; Kokturk, M. & Atamanalp, M. 2017. Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 175: 186–191.
- Väänänen, K.; Kauppila, T.; Mäkinen, J.; Leppänen, M.T.; Lyytikäinen, M. & Akkanen, J. 2016. Ecological risk assessment of boreal sediments affected by metal mining: metal geochemistry, seasonality, and comparison of several risk assessment methods. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 12: 759–771.
- Vidal, C.J. 2005. Expression of cholinesterases in brain and non-brain tumor. *Chemico-Biological Interactions*, 157-158, 227-232.
- Wang, H.; Dong, Y.H.; Yang, Y.Y.; Toor, G.S. & Zhang, X.M. 2013. Changes in heavy metal contents in animal feeds and manures in an intensive animal production region of China. *Journal of Environmental Sciences*, 25: 2435–2442.
- Xia, J., Fang, Y., Shi, Y., Shen, X., Wu, J., Xie, M., Li, P., Pei, F. & Hu, Q. 2018. Effect of food matrices on the *in vitro* bioavailability and oxidative damage in PC12 cells of lead. *Food Chemistry*, 266: 397–404.
- Yanbin, L. & Yong, C. 2015. Mobility of toxic metals in sediments: Assessing methods and controlling factors. *Journal of Environmental Sciences*, 31: 203-205.
- Zhang, K.; Chai, F.H.; Zheng, Z.L.; Yang, Q.; Li, J.S.; Wang, J. & Zhang, Y. 2014. Characteristics of atmospheric particles and heavy metals in winter in Chang-Zhu-Tan city clusters, China. *Journal of Environmental Sciences*, 26: 147–153.

Received November 15, 2019.
Accepted December 28, 2019.