

**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL****SIMILARITY IN THE PREDICTION OF ECOLOGICAL RISK BETWEEN THE SOFTWARE GECOTOX[®] AND BIOMARKERS IN *GAMBUSIA PUNCTATA* (POECILIIDAE)****SIMILITUD EN LA PREDICCIÓN DE RIESGO ECOLÓGICO ENTRE EL SOFTWARE GECOTOX[®] Y BIOMARCADORES EN *GAMBUSIA PUNCTATA* (POECILIIDAE)**George Argota-Pérez¹ & José Iannacone²

¹Laboratorio Ecotoxicología. Grupo de Estudios Preclínicos. Centro de Toxicología y Biomedicina. (TOXIMED).
Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba.

²Laboratorio de Ecofisiología Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV) – Laboratorio de Cordados. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú.

Correo electrónico: george.argota@gmail.com/joseiannacone@gmail.com

The Biologist (Lima), 2014, 12 (1), jan-jun: 85-98.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the similarity for prediction of ecological risk between GECOTOX[®] software and biomarkers in the species *Gambusia punctata*, given the residual pollutant load. The study was conducted from July to December 2013. The prediction of GECOTOX[®] was referred to the variables of source characterization, physicochemical properties, ecotoxicological effects and environmental treatment. *G. punctata* were sampled under natural conditions, measuring the coefficient of biological condition, reproduction and bioaccumulation of metals. The coefficient of biological condition referred to the weight-length relationship, reproduction to the number of fry and juveniles and females within the incubator chamber. The metals analyzed were copper, zinc, lead and cadmium. The similarity to the prediction of ecological risk was referred to the mathematical foundations of arithmetic progression. GECOTOX[®] indicated as the source characterization, with a prediction of medium risk for being a continual residual point source emission. For the number and amount of physical-chemical parameters, the prediction of risk was high for the few parameters found in the standard. There was a high risk prediction for ecotoxicological effects according to the median effective and lethal concentration values, while the environmental treatment of high risk prediction indicated the absence of any treatment, finally throwing, and predicting high risk for multifunctional interaction between variables. Low coefficients of biological condition were encountered by the low weight and size of individuals, decreased due to the low number of juveniles, and juveniles and females with incubator chamber reproduction and bioaccumulation of metals. It was concluded that there was similarity in the prediction of ecological risk between GECOTOX[®] software and biomarkers of *G. punctata*, which indicated that the residual pollutant load had high probability of environmental damage eventually thereby affecting the biology of the species.

Keywords: aquatic ecotoxicology, biomarkers, ecological risk, *Gambusia punctata*, software.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la similitud para la predicción de riesgo ecológico entre el software GECOTOX[®] y biomarcadores en la especie *Gambusia punctata*, dada la carga contaminante residual. El estudio se realizó de julio a diciembre de 2013. La predicción de GECOTOX[®] estuvo referida a las variables: caracterización de la fuente, propiedades físico-químicas, efectos ecotoxicológicos y tratamiento ambiental. Luego se muestreó la especie *G. punctata* en condiciones naturales, midiéndose el coeficiente de condición biológica, reproducción y bioacumulación de metales. El coeficiente de condición biológica fue referido a la relación peso-talla, la reproducción por el número de juveniles y alevines, así como hembras con cámara incubatriz. Los metales analizados fueron cobre, zinc, plomo y cadmio. La similitud para la predicción de riesgo ecológico fue referida a los fundamentos matemáticos de la progresión aritmética. GECOTOX[®] indicó según la caracterización de la fuente, predicción de riesgo medio por ser una fuente puntual con emisión continua residual. Para el número y cantidad de parámetros físico-químicos, la predicción de riesgo fue alta por los pocos parámetros encontrados en norma. Fue alta la predicción de riesgo para los efectos ecotoxicológicos según los valores de concentración efectiva y letal media, mientras que el tratamiento ambiental, indicó predicción de riesgo alto al no existir tratamiento alguno, arrojándose finalmente, predicción de riesgo alto para la interacción multifuncional entre las variables. Se encontró coeficientes de condición biológicos bajos por el poco peso y talla de los individuos, reproducción disminuida debido al bajo número de individuos juveniles, alevines y hembras con cámara incubatriz, así como bioacumulación de metales. Se concluyó que existió similitud en la predicción de riesgo ecológico entre el software GECOTOX[®] y biomarcadores de la *G. punctata*, donde se indicó que la carga contaminante residual, tuvo elevada probabilidad de daños ambientales afectándose finalmente la biología de la especie.

Palabras clave: biomarcadores, ecotoxicología acuática, *Gambusia punctata*, riesgo ecológico, software.

INTRODUCCIÓN

La comprensión, predicción y retrodicción de los efectos ejercidos por factores naturales o antropogénicos sobre la estructura y función de los organismos, poblaciones y comunidades, es una meta clave en la investigación ecológica (Simonetti 2011).

La evaluación de riesgo ecológico, es un proceso a través del cual se pretende estimar la probabilidad de que ocurran en el futuro o estén ocurriendo en el presente, efectos ecológicos adversos en un ecosistema focal como resultado de la exposición a uno o más agentes estresantes liberados al ambiente por la actividad antrópica (USEPA 1992, Encina & Díaz 2001). En tal sentido, la base para

medir el riesgo es igual al daño potencial por la exposición y depende de la cuantificación del efecto ecotoxicológico y de la expresión de la toxicidad formulada en términos de dosis, concentración y de efecto letal para el 50% de los individuos, así como el máximo aceptable de concentración del tóxico, nivel más bajo de efecto observable (LOEC), además del nivel más bajo de concentración no observable (NOEC) (Garte & Bonassi 2005, Bakhtiar 2008, Swenberg *et al.* 2008).

Para las evaluaciones de riesgo en los ecosistemas, no siempre se cuenta con el uso de organismos naturales, por lo que en algunos casos han sido aplicados índices basados en modelaciones. Determinados modelos cuantitativos expresan cambios en condiciones iniciales, valores de parámetros y estructura de

relaciones funcionales que a menudo, ejercen impactos importantes sobre los resultados del modelo. Dambacher & Ramos (2007) señalan que los modelos cuantitativos solo pueden llevarse a cabo con un nivel alto de conocimiento del sistema de interés o focal. A pesar de lo anterior y considerando que en múltiples ocasiones la aplicación de modelos resulta de mucha complejidad, es que actualmente es común que la caracterización del riesgo se realice a través de biomarcadores. Los biomarcadores en ecotoxicología son medidos en especies centinelas y es necesario realizarlo siguiendo todos los protocolos éticos de investigación (Eason & O'Halloran 2002).

Según Owen *et al.* (2008), el uso de biomarcadores es la síntesis de la información cualitativa y cuantitativa que describe la estimación del efecto para la salud antes de la exposición con la identificación de los daños y la evaluación de dosis-respuesta, teniendo en cuenta la información de los datos anteriores disponibles en humanos, diferentes especies y en sistemas *in vitro* cuando sea necesario. A pesar de ello, si conjuntamente con la medición de biomarcadores, éstos son evaluados en estudios sobre especies ecológicamente relevantes, que según DFO (2007), son aquellas que al ser perturbadas por un estresante generan cambios relativamente drásticos en la propiedad comunitaria de interés relativo, lo que provocaría una perturbación de igual magnitud ejercida sobre otras especies de la comunidad y entonces pudiera considerarse que la evaluación de riesgo sobre los ecosistemas generaría mayor predicción.

Por otra parte, puede observarse que existen limitados protocolos para la evaluación del riesgo, pues en general lo que se ha realizado son adecuaciones al modelo convencional que adoptó la USEPA (1992), de lo descrito por la Academia Nacional de Ciencias (NAS) y el Consejo Nacional de Investigaciones (NRC), ambos de los Estados Unidos, quienes

describieron que la evaluación de riesgo consta de cuatro fases: 1^o, identificación del peligro; 2^{do}, evaluación de la relación dosis-respuesta; 3^{ro}, evaluación de la exposición y 4^{to}, caracterización del riesgo, respectivamente.

La propia USEPA (1992), mencionó que para la evaluación de riesgo ecológico, el protocolo puede dividirse en las fases formulación del problema, análisis y caracterización del riesgo. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre evaluación de riesgos han estado enfocados a la fase de análisis, la cual está conformada por dos componentes que son la caracterización de la exposición (estima la probabilidad de ocurrencia de estresantes en el ambiente objetivo) y la caracterización de efectos ecológicos (dada la exposición a un agente estresante se estima, la potencialidad y tipo de efectos esperados en el sistema ecológico objetivo). Asimismo, existen otros dos documentos útiles para tal evaluación como son "Estimación de Riesgos Ecológicos" (Bartell *et al.* 1992) que contiene la descripción de un enfoque integrado para la evaluación de los sistemas ecológicos acuáticos y en particular, de la construcción de modelos de simulación, y el segundo documento referido a "Evaluación de Riesgos Ecológicos" (Suter 1993) que es un resumen con secciones excelentes sobre la aplicación de la biología de las poblaciones y la ecología a la evaluación de riesgos.

Medina & Encina (2003) mencionaron que para la evaluación del riesgo ecológico, la aproximación más utilizada es una razón entre la concentración ambiental predicha (PEC: concentración esperada de un contaminante producto de la operación riesgosa que se está evaluando) y la concentración sin efecto ecológico predicha (PNEC: tolerancia al contaminante medida en una especie), dando por resultado el coeficiente de riesgo (RQ: por sus siglas en inglés).

Sin embargo, considerando todo lo anterior,

aún faltan estudios metodológicos y/o programas computacionales que puedan referirse no solo a la caracterización de la entidad contaminante, sino además al análisis simultáneo entre las variables definidas como residuales tributados, efectos ecotoxicológicos y la significación del sistema de tratamiento ambiental aplicado, donde finalmente puedan compararse las evaluaciones de riesgo realizadas con los efectos en los organismos desarrollados naturalmente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la similitud para la predicción de riesgo ecológico entre el software GECOTOX® y los biomarcadores en la especie *Gambusia punctata* (Poey, 1854), dada la carga contaminante residual tributada al río San Juan en Santiago de Cuba, Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

El estudio se realizó en una fuente contaminante* (*No se revela la fuente contaminante por razones de confidencialidad) de residuales líquidos, los cuales son tributados hacia el río San Juan, ubicado en la ciudad de Santiago de Cuba, Cuba. Fueron tomadas y analizadas seis muestras de residuales líquidos desde julio a diciembre de 2013 (correspondiendo una muestra por mes) para conocer la predicción de riesgo ecológico.

Posteriormente se muestreó la especie *G. punctata* a 1 Km de distancia de la fuente y en condiciones naturales de 500 m² (área de muestreo), realizándose una frecuencia de muestreo de cinco recolectas y por espacio temporal de 25 min para conocer posibles daños generados por los residuales tributados. En la especie se midió como biomarcadores de efecto, el coeficiente de condición biológico (CCB) y la reproducción, mientras que la bioacumulación de metales pesados fue el biomarcador de exposición.

La estación de muestreo correspondió a la parte media de la cuenca hidrográfica en el río principal.

Predicción de riesgo ecológico mediante el Software GECOTOX®

Fue utilizado para la predicción de riesgo ecológico de los residuales líquidos tributados por la fuente el Software GECOTOX® (CENDA 2012), en el cual se evaluó de forma multifuncional las variables de análisis, 1^{to}): caracterización de la entidad, 2^{do}): seguridad de los parámetros físico-químicos, 3^{ro}): efectos ecotoxicológicos y 4^{to}): tipo de tratamiento ambiental aplicado.

La caracterización de la entidad estuvo referida al tipo de fuente según el área geográfica ocupada. Para la seguridad de parámetros físico-químicos se consideró la cantidad de parámetros medidos y el número de ellos que cumplieron el valor o rango permisible por la norma utilizada (NC-27 1999) durante los seis meses de evaluación (julio a diciembre del 2013). Como parámetros físico-químicos se evaluó la conductividad eléctrica (CE: $\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$), pH, sólidos sedimentables totales (ST: $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), demanda bioquímica de oxígeno (DBO_{5,20}: $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), demanda química de oxígeno (DQO: $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), nitrógeno total (NT: $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y los metales pesados: Cu ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Zn ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Pb ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y Cd ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Los efectos ecotoxicológicos fueron evaluados durante los seis meses de evaluación (julio a diciembre del 2013) mediante una batería de tres ensayos tanto acuáticos como terrestres (USEPA 2002) para las muestras de residuales líquidos. La especie utilizada para el ensayo acuático fue *Danio rerio* (= *Brachydanio rerio*) (F. Hamilton, 1822), CL₅₀ (OECD 1992); mientras que *Eisenia andrei* Bouché, 1972, CL₅₀ (OECD 2004) se utilizó en el ensayo terrestre conjuntamente con semillas de *Lactuca sativa* Linnaeus, CE₅₀ (OECD 1984).

El tipo de tratamiento ambiental aplicado estuvo evaluado según la siguiente clasificación: primario, secundario, terciario como cuaternario; y en dependencia de si este tratamiento se aplicó correctamente fue considerado como real, de lo contrario potencial.

Cada variable considerada, fue codificada por un rango de números arábigos asignados según el criterio de evidencia científica "evaluación de experto", permitiendo que el riesgo expresado de forma cualitativa en alto, medio y bajo pudiera ser operativo en su forma cuantitativa a través de razones matemáticas.

Predicción de riesgo ecológico mediante biomarcadores en *Gambusia punctata*

A. Coeficiente de condición biológico (CCB): para el muestreo de la especie se utilizó un jamo profesional rectangular de 70 x 50 cm y 50 cm de profundidad y luz de malla de 0,05 cm. Solo fueron seleccionados aquellos individuos cuya talla se encontraban entre 2,1 – 4,0 cm de longitud total. El sexo en los adultos se determinó por la presencia del gonopodio en machos de acuerdo con los criterios de Constanz (1989), Reznick (1990) y McPeck (1992). Todos los ejemplares fueron pesados mediante una balanza analítica marca Mettler AE- 163 ($\pm 0,01$ g). En el caso de las hembras, el peso total se calculó sin la presencia de la cámara incubatriz. Para analizar el desarrollo de los peces según las condiciones ambientales del medio, se utilizó el CCB para ambos sexos, el cual fue calculado mediante la ecuación establecida por Silva (1988) y Rodríguez (1992) que describen lo siguiente: $CCB = Pt / Lt^3 \times 100$. Dónde: Pt (peso total) y Lt (longitud total).

B. Reproducción: fue referida al número de individuos por intervalos o clases de edades correspondiendo al estado adulto, juvenil y alevines respectivamente. En el caso de las hembras se consideró aquellas con presencia de la cámara incubatriz.

C. Bioacumulación: la determinación y cuantificación de los metales Cu, Zn, Pb y Cd correspondió a lo recomendado por Argota *et al.* (2013a).

Aspectos bioéticos

La eutanasia para la *G. punctata*, consistió en preparar bolsas esterilizadas con hielo, las que se depositaron en recipientes de cristal con agua tratada, procurando que durante la inmersión de los ejemplares, éstos fueran tranquilizados para el análisis de los biomarcadores.

Análisis de similitud de riesgo ecológico

Fue referida mediante los fundamentos básicos de la progresión aritmética según la siguiente ecuación: $A_n = A_0 + r(n - 1)$. Dónde: $A_n = n$ –ésimo término, $A_0 =$ valor inicial, y $r =$ razón. Considerando lo anterior se estableció, los rangos o intervalos del riesgo bajo, riesgo medio y riesgo alto para el software GECOTOX[®], cumpliéndose las siguientes dos condiciones:

1^{ro}. Los valores prefijados asignados a la clasificación de daño, no fueron arbitrarios.

2^{do}. El valor atribuido cumplió con ser exhaustivo y excluyente. Es decir, fueron sin daño (X), bajo (3X), medio (5X) y alto (10X). Sin embargo, a pesar que existe una clasificación "sin daño", esta no puede ser cero (0), ya que se consideró por una parte, que habrán siempre daños espontáneos en la naturaleza biológica, además del nivel de conocimiento sobre la existencia de cualquier exposición, independientemente de que los efectos a corto plazo no sean observables, por lo que se asignó un valor inicial que correspondió a 1 (equivalente a X). Para establecer el valor de riesgo se siguió la siguiente ecuación: $R = Pr \cdot C \cdot Pe \cdot V$.

Dónde: Pr = probabilidad (peligro: Pe) y C = consecuencia (vulnerabilidad: V).

Las definiciones de cada variable fueron clasificadas según lo siguiente:

- probabilidad alta: daños de ocurrencia siempre.
- probabilidad media: daños de ocurrencia en determinadas ocasiones.
- probabilidad baja: daños de ocurrencia raras veces.
- consecuencia alta: respuesta biológica muy comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos.
- consecuencia media: respuesta biológica comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos.
- consecuencia baja: respuesta biológica poco comprometida con lesiones, trastornos y comportamientos anómalos.
- cuando no son observables lesiones, trastornos o comportamientos anómalos, entonces la consecuencia es "sin daño", es decir, respuesta biológica aparentemente ordenada.

Magnitud del valor del riesgo (MVR).

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

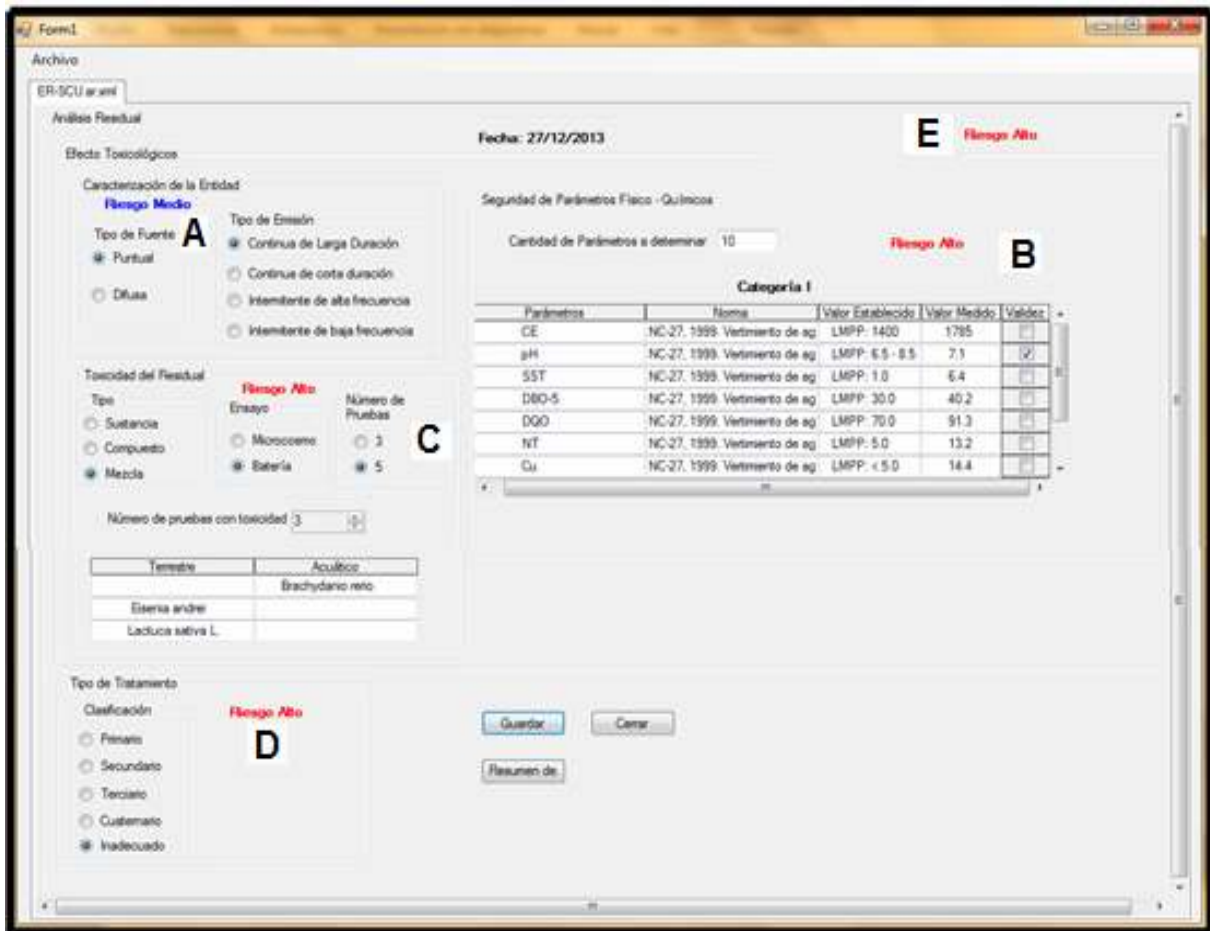
- magnitud trivial: cambios o manifestaciones ajenas que no son invalidantes para la vida de los organismos.
- magnitud leve: daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos no sistémicos.
- magnitud moderada: daños atribuibles a lesiones, trastornos o comportamientos anómalos que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

Análisis de los datos

Para el tratamiento de los resultados fueron aplicados métodos estadísticos utilizando el software profesional Statgraphics (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La fig. 1, señala las evaluaciones realizadas en la fuente contaminante tributaria, así como a sus residuales. La caracterización de la fuente correspondió a la designación de tipo puntual y al evaluar la frecuencia de emisión según el tiempo en que se vierte el residual, éste fue de emisión continua. Atendiendo a dichas evaluaciones, GECOTOX® indicó un riesgo de tipo medio (letra A).



Form1

ER-SCU ar ent

Análisis Residual

Fecha: 27/12/2013

E Riesgo Alto

Efectos Toxicológicos

Caracterización de la Entidad

Riesgo Medio

Tipo de Fuente **A**

Puntual

Difusa

Tipo de Emisión:

Continua de Larga Duración

Continua de corta duración

Intermitente de alta frecuencia

Intermitente de baja frecuencia

Toxicidad del Residual

Riesgo Alto

Tipo

Sustancia

Compuesto

Mezcla

Ensayo

Microcosmo

Bateria

Número de Pruebas

2

5 **C**

Número de pruebas con toxicidad 3

Terrestre	Acuático
Elsteria andrei	Brachydanio rerio
Lactuca sativa L.	

Seguridad de Parámetros Físico-Químicos

Cantidad de Parámetros a determinar 10 **Riesgo Alto** **B**

Categoría I

Parámetros	Norma	Valor Establecido	Valor Medido	Validez
CE	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: 1400	1785	<input type="checkbox"/>
pH	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: 6.5 - 8.5	7.3	<input checked="" type="checkbox"/>
SST	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: 1.0	6.4	<input type="checkbox"/>
DBO-5	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: 30.0	40.2	<input type="checkbox"/>
DQO	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: 70.0	91.3	<input type="checkbox"/>
NT	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: 5.0	13.2	<input type="checkbox"/>
Cu	NC-27, 1999, Vertimiento de ag	LMPP: < 5.0	14.4	<input type="checkbox"/>

Tipo de Tratamiento

Clasificación

Riesgo Alto **D**

Primario

Secundario

Terciario

Cuaternario

Inadecuado

Guardar

Cancelar

Resumen de

Figura 1. Aplicación de GECOTOX® en la predicción de riesgo ecotoxicológico.

En cuanto a la determinación de los parámetros físico-químicos en general, superaron el valor establecido por la norma utilizada y por tanto se indicó, un riesgo de tipo alto (letra B). Ello implicó que el vertimiento puede traer consigo efectos negativos ambientales. La determinación de parámetros físico-químicos según Ramírez *et al.* (2008), han sido referidos históricamente a la calidad ambiental del agua, siendo utilizados para este caso particular, a la calidad de los residuales.

Lakshmanan *et al.* (2009) plantean, que las fluctuaciones de los parámetros físico-químicos pueden ser tan normales que cualquier tipo de contaminación natural puede traer en consecuencia, malas interpretaciones del comportamiento o salud ambiental de los

ecosistemas, es por ello que en el Software GECOTOX® se consideró realizar evaluaciones de efectos ecotoxicológicos mediante una batería de ensayos con varios biomodelos, debido a que los mismos permiten evaluar impactos antropogénicos (Salazar 2009).

En la evaluación del residual se observó durante los seis meses de evaluación (julio a diciembre del 2013) valores de CL_{50} y CE_{50} menores al 100% para los tres biomodelos utilizados por lo que se indicó un riesgo alto (letra C).

Al evaluar el sistema de tratamiento ambiental de la fuente, esta no aplica ningún método, ya sean destructivos como no destructivos de

contaminantes residuales; por lo que se indicó un riesgo de tipo alto (letra D). Esta situación es de gravedad, ya que trae consigo nefastas consecuencias, debiendo ser entonces una razón de prioridad el control de la contaminación residual. La interacción multifuncional de todas las variables arrojó

que existe un riesgo ecotoxicológico para los residuales de la fuente, alto (letra E).

La Tabla 1, muestra los valores del coeficiente de condición biológico en la especie *Gambusia punctata* durante los meses de estudio.

Tabla 1. Coeficiente de condición biológico (CCB) según sexo en la especie *Gambusia punctata* durante julio a diciembre del 2013. *: *Gambusia punctata*. Río Filé, Santiago de Cuba – Cuba (Argota *et al.* 2012a). Letras a, b, c y d: diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

mes	sexo	CCB referencia (0,085) *
julio	hembra	0,044 ^a
	macho	0,032
agosto	hembra	0,041 ^b
	macho	0,033
septiembre	hembra	0,038 ^c
	macho	0,029
octubre	hembra	0,041 ^b
	macho	0,027
noviembre	hembra	0,043 ^{b,d}
	macho	0,034
diciembre	hembra	0,042 ^{a,d}
	macho	0,037

Como se puede apreciar en la tabla 1, todos los valores del CCB en ambos sexos, fueron inferiores al compararlos con el obtenido en la especie de referencia ambiental. No se comparó los valores de CCB entre machos y hembras por su reconocido dimorfismo sexual marcado. Según el ANOVA realizado mediante el procedimiento de las menores diferencias estadísticas de Fisher (LSD), éste arrojó que entre meses el CCB de las hembras fue significativamente diferente ($p < 0,05$), siendo importante señalar que los meses evaluados correspondieron al período de lluvia donde los residuales vertidos pueden ser diluidos en el cuerpo receptor ocasionando de esta manera, menos efectos dañinos en las poblaciones acuáticas. A pesar de lo anterior, los valores de los CCB muestran que los residuales están afectando tanto el peso como la talla de la especie y por ende, el crecimiento.

La evolución en el coeficiente de condición biológico pone de manifiesto la tendencia de los organismos a recuperar sus pesos y tallas corporales pero cuando este coeficiente no se alcanza se indica por el contrario, el índice de adelgazamiento sufrido. Comparar los valores del coeficiente de condición biológico entre especies resulta muy complicado, pues este coeficiente depende de varios factores como son la especie, estado de desarrollo, condiciones ambientales, intensidad y duración de los períodos de privación alimentaria, entre otros factores (Argota *et al.* 2013b).

La Tabla 2, muestra los valores de la reproducción en la especie *G. punctata* durante los seis meses de estudio. En una población, el número de individuos por clases de edades es representativo del estado natural o condición

del medioambiente donde se desarrolla la población. Cuando la población no es de ciclo de vida corta como en *G. punctata* (Argota *et al.* 2013b), es de esperar que la densidad

poblacional sea homogénea, aunque el número de alevines como juveniles, deberá ser mayor con relación al estado adulto, debido a la alta tasa reproductiva de las hembras.

Tabla 2. Valores de reproducción en *Gambusia punctata* durante julio a diciembre del 2013. CI = Intervalos de clase.

mes	alevines	juveniles	adultos	CI		
				No.	%	
julio	21	26	hembras	19	3	15,79
			machos	16		
agosto	24	26	hembras	22	4	18,18
			machos	15		
septiembre	29	33	hembras	24	4	16,67
			machos	14		
octubre	27	32	hembras	18	3	16,67
			machos	12		
noviembre	26	31	hembras	17	2	11,76
			machos	11		
diciembre	28	32	hembras	19	2	10,53
			machos	13		

Los resultados obtenidos en la tabla 2 mostraron similar número para la estructura etárea, por lo que pudiera interpretarse que la reproducción en la especie está afectándose. Argota *et al.* (2013c) señalaron en estudios con la misma especie y en el mismo ecosistema, que la contaminación ambiental afecta la reproducción, coincidiendo además con lo planteado por Lee (2000), quien ha señalado que la reproducción, es una conducta natural que indica la perpetuación de las especies, la cual puede estar limitada por las condiciones ambientales del medio, siendo para este estudio en lo particular, generado por descargas residuales sin tratamiento ambiental.

La Tabla 3, muestra los valores bioacumulados de los metales pesados en la especie *G. punctata*. Para todos los elementos, las

concentraciones determinadas fueron superiores al valor de referencia ambiental en ambos sexos y meses. Es importante considerar que si bien la bioacumulación es un mecanismo inicial de tolerancia y adaptación al medio cuando el mismo está perturbado por metales pesados, éstos elementos pueden ser tóxicos y por tanto, afectar desde el nivel molecular hasta el de organismo (Argota *et al.* 2012b, 2013a).

Según Robles *et al.* (2008) en los ambientes acuáticos las excesivas concentraciones de metales afectan a los organismos de diferentes maneras, pudiendo ocasionar desde una disminución de su metabolismo y crecimiento hasta la muerte celular, debido a que puede ocasionarse asfixia debido a la coagulación de las mucosidades sobre las branquias.

Tabla 3. Bioacumulación de metales pesados en la especie *Gambusia punctata* (mg·L⁻¹) durante julio a diciembre del 2013. (*): *Gambusia punctata*. Río Filé, Santiago de Cuba – Cuba (Argota *et al.*, 2012a,b).

mes	sexo	metales pesados			
		Cu	Zn	Pb	Cd
julio	hembra	± 0,088	± 0,112	± 0,020	± 0,010
	macho	± 0,071	± 0,098	± 0,017	± 0,008
agosto	hembra	± 0,094	± 0,121	± 0,022	± 0,011
	macho	± 0,073	± 0,089	± 0,017	± 0,008
septiembre	hembra	± 0,083	± 0,134	± 0,025	± 0,012
	macho	± 0,072	± 0,083	± 0,019	± 0,009
octubre	hembra	± 0,086	± 0,109	± 0,029	± 0,012
	macho	± 0,077	± 0,087	± 0,020	± 0,009
noviembre	hembra	± 0,081	± 0,104	± 0,026	± 0,010
	macho	± 0,069	± 0,093	± 0,019	± 0,008
diciembre	hembra	± 0,089	± 0,106	± 0,028	± 0,009
	macho	± 0,075	± 0,088	± 0,021	± 0,006
referencia ambiental *		± 0,017	± 0,045	± 0,012	± 0,004

Según Eason & Halloran (2002), en relación con los tóxicos en el ambiente, la evaluación del riesgo se basa en la comparación de los datos de toxicidad obtenidos en laboratorio con la exposición esperada en campo, pero reconoce que la medición del efecto que un determinado químico produce, realmente es complejo.

Para analizar la similitud entre el Software GECOTOX[®] y la especie *G. punctata*, el programa indicó una predicción de riesgo ecológico alto, informando entonces, un probable daño ambiental. Al evaluar el CCB, reproducción y bioacumulación de metales pesados en la especie, éstos índices arrojaron una respuesta adversa según las condiciones del medio. Por tanto, establecer bajo un sentido cognoscitivo, el cómo considerar un tipo de respuesta en los organismos, representa sin duda alguna conocer sobre la propia sobrevivencia de cualquier ente vivo.

De lo anterior y teniendo en cuenta los fundamentos básicos de la progresión aritmética expresada, puede mencionarse categóricamente que cualquier tipo de probabilidad de riesgo puede ser equivalente a

una determinada consecuencia de daño y por tanto, corresponderse una magnitud del valor del riesgo donde cuantitativamente pueden ser establecidas asignándole un valor prefijado, obteniéndose las siguientes ecuaciones:

- probabilidad de riesgo
 - A. $[X - 3X]$: bajo
 - B. $[3X + 1 - 5X + 4]$: medio
 - C. $[5X + 5 - 10X]$: alto
- magnitud del valor de riesgo
 - A. $[X - 3X]$: trivial
 - B. $[3X + 1 - 5X + 4]$: leve
 - C. $[5X + 5 - 10X + 5]$: moderada
 - D. $[15X + 1 - 15X + 4]$: severa
 - E. $[15X + 5 - 15X + 5]$: extrema

Las ecuaciones anteriores, establecen rangos o intervalos de código de puntuación, pues ello permitió que cada variable definida por el Software GECOTOX[®], al adquirir diferentes valores y finalmente interactuar entre ellas, exista una gama de números agrupados que correspondieron a señalar el tipo de probabilidad de riesgo. De igual manera, debió señalarse que al ser diferente el tipo de riesgo, éstos también arrojan diferentes tipo de daños, por lo que el rango a establecer primero debió

ser consecutivo y en segundo término, existir intrínsecamente en cada ecuación un número diferente que magnifique tanto el riesgo como el daño, siendo entonces su asignación en X, 3X, 5X, 10 X y 15X, respectivamente.

De manera que, al ser consideradas las respuestas de los biomarcadores como comportamientos anómalos invalidantes y donde comienza acortarse la vida de la especie, entonces se clasificó la magnitud del riesgo en severa (tabla 4).

Asimismo, teniendo en cuenta que toda magnitud severa es equivalente a un riesgo alto, puede demostrarse que el riesgo predicho por el Software GECOTOX[®], expresó una probabilidad alta de daños ambientales para los residuales tributados, los cuales posteriormente se evidenciaron en los valores del coeficiente de condición biológico, reproducción y bioacumulación de metales pesados.

Tabla 4. Magnitud del valor del riesgo en la especie *Gambusia punctata*.

probabilidad de riesgo GECOTOX [®]	índice	MVR				
		trivial	leve	moderada	severa	extrema
	CCB				x	
alto	reproducción				x	
	bioacumulación				x	

CCB=Coeficiente de condición biológico.

Finalmente, puede considerarse lo planteado por Garea & Fernández (2009), que en la actualidad los riesgos a la salud por problemas ambientales son cada vez mayores y con una característica distintiva, pues no son simplemente un resultado de exposiciones localizadas de formas tradicionales, sino que constituyen el resultado de presiones más amplias sobre los ecosistemas.

Las consecuencias de la despreocupada forma de desarrollo por actividades humanas se están comenzando a evidenciar, indicando que las sustancias químicas están alcanzando todos los lugares del planeta y que los seres vivos las están acumulando en su organismo. Los efectos de la contaminación ambiental y bioacumulación parecen estar poniendo en grave peligro la salud a nivel global. Muchos de los cientos de sustancias químicas que contaminan nuestro cuerpo son tóxicos también para otros seres vivos (Río 2005).

El elevado número de compuestos químicos, la

variedad de sus posibles efectos adversos y diversas incertidumbres sobre su magnitud clínica y poblacional han generado una preocupación razonable en científicos, médicos y ambientalistas entre otros profesionales, así como en una parte no desdeñable del resto de la sociedad (Weinhold 2003, Porta *et al.* 2006), por lo que sin duda alguna, mucho tendría que hacerse aún en la búsqueda de protocolos de análisis para la evaluación de riesgo que tenga en cuenta la incorporación y medición de variables reales, debido a que de esta manera se tendría mayor seguridad sobre lo planteado por Emmanuel *et al.* (2005) que refieren la existencia entre los contaminantes ambientales de sustancias con capacidad de inducir mutaciones y cambios genéticos en el ecosistema acuático y por tanto, generar efectos genotóxicos.

Asimismo, según Orrego *et al.* (2005) y Öztürk *et al.* (2009), plantean que cada nivel de respuesta biológica como las determinadas en los biomarcadores de la especie *G. punctata*,

representa una señal integrada de los niveles de contaminación en un área ambiental y de esta forma, funciona como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural está siendo expuesta.

En este trabajo se concluyó, que existió similitud en la predicción de riesgo ecológico entre el software GECOTOX® y el riesgo expresado por los biomarcadores de la *G. punctata*, donde se indicó que la carga contaminante residual, tuvo elevada probabilidad de daño ambiental afectándose finalmente, la biología de la especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argota, G.; González Y.; Argota H.; Fimia R. & Iannacone J. 2012a. Desarrollo y bioacumulación de metales pesados en *Gambusia punctata* (Poeciliidae) ante los efectos de la contaminación acuática. REDVET Revista electrónica Veterinaria, 13:5.
- Argota, G.; Argota, H.; Larramendi, D.; Mora, Y.; Fimia, R. & Iannacone, J. 2012b. Histología y química umbral de metales pesados en hígado, branquias y cerebro de *Gambusia punctata* (Poeciliidae) del río Filé de Santiago de Cuba. REDVET Revista electrónica Veterinaria, 13: 5.
- Argota, G.; Argota, H.; Rodríguez, J. & Fernández, A. 2013a. 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 de Química, 25: 92-99.
- Argota, G.; Iannacone, J. & Fimia, R. 2013b. Características de *Gambusia punctata* (Poeciliidae) para su selección como biomonitor en ecotoxicología acuática en Cuba. The Biologist (Lima), 11: 229-236.
- Argota, G.; Fimia, R. & Iannacone, J. 2013c. Análisis reproductivo y trófico en la *Gambusia punctata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) del río San Juan. REDVET Revista electrónica Veterinaria, 14: 6.
- Bartell, S.M.; Gardner, R.H. & O'Neill, R.V. 1992. *Ecological risk estimation*. Chelsea, MI: Lewis Publishers.
- Bakhtiar, R. 2008. Biomarkers in drug discovery and development. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 57: 85-91.
- CENDA (Centro Nacional de Derecho de Autor). 2012. Registro, 2007 - 2012. George Argota Pérez. República de Cuba.
- Constantz, D. 1989. *Reproductive biology of Poeciliid fishes*. pp. 33-50. In Meffe, G.K. & Snelson, F.F. Jr (eds.). *Ecology and evolution of Live bearing fishes (Poeciliidae)*. Englewood Cliffs, Nueva Jersey, Estados Unidos.
- Dambacher, J.M. & Ramos, J.R. 2007. Understanding and predicting effects of modified interactions through a qualitative analysis of community structure. The Quarterly Review of Biology, 82: 227-250.
- DFO (Department of Fisheries and Oceans). 2007. *Identification of ecologically significant species and community properties*. Department of Fisheries and Oceans Canada. Science Advisory Report 2006/041.
- Eason, C. & O'Halloran, K. 2002. Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment. Toxicology, 181-182: 517-521.
- Emmanuel, E.; Perrodin, Y.; Keck, G.; Blanchard, J.M. & Vermande, P. 2005. Ecotoxicological risk assessment of hospital wastewater: a proposed framework for raw effluents discharging into urban sewer network. Journal of Hazardous Materials, 117: 1-11.
- Encina, F. & Díaz, O. 2001. *Contaminación*,

- estimación del riesgo ecológico y protección asociado a algas bentónicas marinas*. pp. 336-357. En: Alvear, K. & Antezana, T. (eds). *Sustentabilidad de la biodiversidad*. Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- Garea, B. & Fernández, L. 2009. *Medio ambiente, salud humana y seguridad alimentaria: principales problemas e interrelaciones*. Convención de Medio Ambiente. La Habana: Palacio de Convenciones.
- Garte, S. & Bonassi, S. 2005. Linking toxicology to epidemiology: biomarkers and new technologies- Special issue overview. *Mutation Research*, 592: 3-5.
- Lee, 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: 61-258.
- Lakshmanan, R.; Kesavan, K.; Vijayanand, P.; Rajaram, V. & Rajagopal, S. 2009. Heavy metals accumulation in five commercially important fishes of Parangipettai, Southeast coast of India. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 1: 63-65.
- McPeck, M. 1992. Mechanisms of sexual selection operating on body size in the mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Behaviour Ecology*, 3:1-12.
- Medina, M. & Encina, F. 2003. Incorporación de la evaluación de riesgo ecológico en el sistema de evaluación de impacto ambiental para ecosistemas acuáticos en Chile. *Revista Ambiente y Desarrollo (Chile)*, 19: 19-26.
- NC (Norma Cubana). -27. 1999. *Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado*. Especificaciones. NC 27-1999.
- OECD (Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo). 1984. *Terrestrial Plants, Growth Test*. Guidelines for testing of chemicals. N° 208. Paris.
- OECD (Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo). 1992. *Fish acute toxicity test*. OECD Guidelines for testing of chemicals N° 203. Paris.
- OECD (Organización Europea para la Cooperación y el Desarrollo). 2004. *Earthworm reproduction test (Eisenia foetida/Eisenia andrei)*. Guidelines for testing of chemicals. N° 222. Paris.
- Orrego, R.; Moraga, C.G.; González, M.; Barra, R.; Valenzuela, A.; Burgos, A. & Gavilán, J.F. 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.
- Owen, R.; Depledge, M.; Hagger, J.; Jones, M. & Galloway, T. 2008. Biomarkers and environmental risk assessment: guiding principles from the human health field. *Marine Pollution Bulletin*, 56: 613-619.
- Porta, M.; Ballester, F.; Ribas, N.; Puigdomènech, E.; Selva, J. & Llop, S. 2006. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población general española. Criterios para un diagnóstico de la situación actual. *Gaceta Sanitaria*, 20: 233-238.
- Ramírez, M.A.P.; León, M.M.L. & Piñeiro, P.S. 2008. Metales pesados en trucha (*Micropterus salmoides floridanus*) de la presa Habanilla, Cuba. *Revista AquaTIC*, 29: 1-9.
- 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.

- Río, S. 2005. Contaminación química en la infancia: Bioacumulación y efectos potenciales. *Revista Española de Salud Pública*, 79: 221-228.
- Robles, C.A.; Pérez, R., Vázquez, M.L.; Sánchez, J.G. & Aguirre, G. 2008. Variabilidad espacio-temporal de metales pesados en camarones, agua y sedimentos de la laguna Madre, Tamaulipas. Tu Revista Digi.u@t Disponible en: <http://www.turevista.vat.edu.mx/vol203%20num%202> leído el 25 de diciembre del 2013.
- Rodríguez, M. 1992. *Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces*. 1^{ra} ed. A.G.T. Editor, S.A. México, DF.
- Salazar, R. 2009. Estado del conocimiento de las concentraciones de cadmio, mercurio y plomo en organismos acuáticos de Venezuela. REDVET Revista electrónica de Veterinaria, 10: 1-15.
- Silva, L. 1988. *Aspectos biológicos del titi (Peces: Gobidae: Seclucium puntatum Perugia, 1986) en la región de Santa Marta*. Universidad Nacional de Colombia. 156 p.
- Simonetti, J.A. 2011. Conservation biology in Chile: Are we fulfilling our social contract? *Revista Chilena de Historia Natural*, 84: 161-170.
- Statgraphics. 2001. *Statgraphics Plus for Windows. Version 5.1*. Copyright 1994-2001 for Statistical Graphics Corporation. SOFTWARE.
- Suter, G.W. 1993. *Ecological risk assessment*. Chelsea, MI: Lewis Publishers.
- Swenberg, J.A.; Fryar, E.; Jeong, Y.; Boysen, G.; Starr, T.; Walker, V.E. & Albertini, R.J. 2008. Biomarkers in toxicology and risk assessment: informing critical dose-response Relationships. *Chemical Research Toxicology*, 21: 253-265.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency). 2002. *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. 5^{ta} ed. USEPA Office of Water, Washington, D.C. EPA-821-R-02-012. 266.
- Weinhold, B. 2003. Body of evidence. *Environmental Health Perspectives*, 111: 394A-399A.

Received February 20, 2014.
Accepted March 21, 2014.