

**ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL****CHARACTERISTICS OF *GAMBUSIA PUNCTATA* (POECILIDAE) FOR ITS SELECTION AS BIOMONITOR IN AQUATIC TOXICOLOGY IN CUBA****CARACTERÍSTICAS DE *GAMBUSIA PUNCTATA* (POECILIIDAE) PARA SU SELECCIÓN COMO BIOMONITOR EN ECOTOXICOLOGÍA ACUÁTICA EN CUBA**George Argota¹, José Iannacone² & Rigoberto Fimia³¹ Laboratorio Ecotoxicología. Grupo de Estudios Preclínicos. Centro de Toxicología y Biomedicina. (TOXIMED). Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba.² Laboratorio Ecofisiología Animal. Universidad Nacional Federico Villareal (UNFV) - Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima, Perú.³ Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM). Villa Clara, Cuba.
Correo electrónico: george.argota@gmail.com/joseiannacone@gmail.com

The Biologist (Lima), 2013, 11(2), jul-dec: 229-236.

ABSTRACT

The use of natural organisms in their capacity as biomonitors allows the evaluation of the environmental conditions of aquatic ecosystems. The aim of this study was to describe the characteristics of *Gambusia punctata* Poey, 1854 (Poeciliidae) for selection as a biomonitor in aquatic ecotoxicology. The species was selected to be representative and monitored from 2004 to 2012 on a quarterly basis, with two of them corresponding to periods of rain and little rain outside the Almendares -Vento Basin in San Juan Havana and Santiago de Cuba, Cuba, respectively. The description of the characteristics of the referred species considered whether they met seven criteria for biomonitoring: 1) cosmopolitan distribution, 2) easy taxonomic identification, 3) appropriate size, 4) limited mobility and relatively long life cycle, 5) tolerant to contamination, 6) easy handling in laboratory studies, and 7) correlation between the contaminant of interest and other environmental matrices. The characteristics were met for each of the seven criteria, and thus have conditional use as biomonitors in ecotoxicology studies and for the ecosystem at San Juan Almendares, Cuba.

Keywords: aquatic systems, biomonitor, contamination, ecotoxicology, *Gambusia*.**RESUMEN**

La utilización de organismos naturales en su condición de biomonitores, permite evaluar las condiciones ambientales de los ecosistemas acuáticos. El objetivo de la presente investigación fue describir las características de *Gambusia punctata* Poey, 1854 (Poeciliidae) para su selección como biomonitor en ecotoxicología acuática. La especie fue seleccionada por ser representativa y monitoreada desde el año 2004 hasta el 2012 con una frecuencia trimestral correspondiendo dos de ellos a los períodos de lluvia y poca lluvia pertenecientes a la Cuenca Hidrográfica Almendares-Vento en La Habana y San Juan de Santiago de Cuba, Cuba, respectivamente. La descripción de las características de la especie estuvo referida a considerar si se cumple con siete criterios registrados para biomonitores, los cuales corresponden a: 1) distribución cosmopolita, 2) fácil identificación taxonómica, 3) tamaño apropiado, 4) movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo, 5) tolerante a la contaminación, 6) fácil manejo para estudios de laboratorios, y 7) correlación entre el contaminante de interés y el resto de las matrices ambientales. Las características fueron cumplidas para cada uno de los siete criterios, donde tal condición ha condicionado utilizarla como biomonitor en estudios de ecotoxicología tanto para el ecosistema Almendares como San Juan, Cuba.

Palabras clave: biomonitor, contaminación, ecotoxicología, *Gambusia*, sistemas acuáticos.

INTRODUCCIÓN

A nivel de ecosistema acuático, los peces están entre de los primeros organismos utilizados en los protocolos de evaluación ecotoxicológica (Iannacone & Alvariño 1998, Zhou *et al.* 2008, Iannacone *et al.* 2007, Sisinno & Oliveira-Filho 2013), aunque también es relevante considerar que dada la característica más importante de este grupo taxonómico que está relacionada con su posición clave en la cadena trófica, la cual puede afectar la salud humana; es que en la actualidad los peces están siendo utilizados como especies con categoría de centinelas en los estudios ambientales (Gómez-Manrique & Machado-Neto 2008, Napán *et al.* 2010, Manrique *et al.* 2013).

En el caso del pez *Gambusia punctata* Poey, 1854 (Poeciliidae), que habita de forma natural en los ríos cubanos (Alayo, 1973), donde además de su control biológico de larvas fundamentalmente para los géneros *Anopheles* y *Aedes*, esta especie ha mostrado efectos sobre el desarrollo y bioacumulación de elementos tóxicos como son los metales pesados en las aguas (Argota *et al.* 2012a, 2013a,b).

En el campo referente a la ecotoxicología acuática, los cambios biológicos expresados por los organismos, poblaciones o comunidades sirven como señales de posible alteración para un ecosistema debido principalmente, a las actividades de origen antropogénico (Manrique *et al.* 2013). Cada nivel de respuesta biológica, representa una señal integrada de los niveles de contaminación en un área determinada y de esta manera, sirve como indicador del riesgo ecotoxicológico a que una población natural está siendo expuesta (Orrego *et al.* 2005).

La idea de la utilización de organismos o comunidades de organismos para registrar y evaluar ciertas características del medio

ambiente data del siglo XVI. Con el comienzo de la era industrial se comprobó que los organismos eran capaces no solo de identificar las características naturales de los lugares donde se desarrollan, sino que podían proveer información tanto cualitativa como cuantitativa de los cambios ambientales provocados por el hombre, de ahí que exista una amplia información acerca de la utilización de los biomonitores, ya sean plantas o animales para el estudio integral de la contaminación ambiental en todo el planeta (Martín & Coughtrey 1990).

El biomonitoreo en sentido general, es el uso de las propiedades de un organismo o parte de él, para obtener información acerca del contenido de la biosfera (Birungi *et al.* 2007). La información puede obtenerse según cambios en el comportamiento del organismo monitor como son la morfología, composición de las especies, predominio de sexo, cantidad de individuos poblacionales, concentración de un elemento en el tejido biológico, entre otros (Market *et al.* 1997).

Es importante mencionar que todo organismo como ente biológico, tiene la capacidad potencial de ofrecer cualquier respuesta como reacción ante estímulos en el medio pero cualquier respuesta, puede variar de forma correlacionada de acuerdo si el organismo es clasificado en su condición de bioindicador o biomonitor, siendo esta última condición más reflexiva sobre la calidad ambiental de los ecosistemas, ya que los biomonitores poseen mejores ventajas (Birungi *et al.* 2007, Price 2007).

El objetivo del presente trabajo fue describir las características de *G. punctata* para su selección como biomonitor en ecotoxicología acuática en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

La especie seleccionada para el estudio correspondió a la *G. punctata*, representativa del ecosistema acuático de Cuba, donde la misma fue monitoreada durante ocho años transcurridos desde octubre de 2004 hasta octubre de 2012 con una frecuencia trimestral, correspondiendo dos de ellos para los períodos de lluvia y poca lluvia. Fueron monitoreados como ecosistemas acuáticos los ríos principales Almendares y San Juan, pertenecientes a la Cuenca Hidrográfica Almendares-Vento en La Habana y San Juan de Santiago de Cuba, Cuba, respectivamente.

Para evaluar las características de *G. punctata* como biomonitor se siguieron siete criterios recomendados por Rosenberg & Pesh (1993), Sloof (1993) y Díaz (1995), los cuales correspondieron a que la especie pueda presentar: 1) distribución cosmopolita, 2) fácil identificación taxonómica, 3) tamaño apropiado, 4) movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo, 5) tolerante a la contaminación, 6) fácil manejo para estudios de laboratorios, y 7) correlación entre el contaminante de interés y el resto de las matrices ambientales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1, señala los siete criterios aplicados que cumplió *G. punctata*, para ser considerada posible biomonitor en los estudios de ecotoxicología acuática realizados en los ecosistemas Almendares y San Juan.

Distribución cosmopolita. Investigaciones reportadas por Alayo (1973), quien es considerado uno de los naturalistas que más ha estudiado la ictiofauna en Cuba, menciona que la *G. punctata* es una de las especies más representativa dentro del género. El género *Gambusia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) presenta actualmente una distribución cosmopolita (Pérez-León & Schmitter-Soto 2007). Asimismo, Ponce de León & Rodríguez (2010) indica que esta especie es uno de los poecílidos endémicos de Cuba presente en todos los ecosistemas dulceacuícolas del archipiélago cubano. Sin embargo, es importante considerar que los estudios con esta especie son muy escasos en los ecosistemas lénticos (Ponce de León & Rodríguez 2010). Aunque la especie *G. punctata* es nativo de Cuba y no es estrictamente cosmopolita, el género *Gambusia* actualmente es de amplia distribución. Asimismo, una observación

Tabla 1. Siete criterios para biomonitores aplicados en *Gambusia punctata* (Poeciliidae).

Criterios	selección de cumplimiento	
	Cumple	no cumple
distribución cosmopolita	X	
fácil identificación taxonómica	X	
tamaño apropiado	X	
movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo	X	
tolerante a la contaminación	X	
fácil manejo para estudios de laboratorios	X	
correlación entre contaminante de interés y resto de las matrices ambientales	X	

interesante ha sido en lo particular para el río Almondares, pues la especie *G. punctata* cuando coexiste en el ecosistema con la especie *Gambusia puncticulata* (Poey, 1854) su distribución en el medio es desigual, no encontrándose el porqué del predominio de una con relación a la otra, variando tal respuesta en el mismo lugar y momentos diferentes para un mismo período del año.

Fácil identificación taxonómica. Con respecto a la identificación taxonómica, la especie *G. punctata* ha sido bien clasificada (Lara et al. 2010, Ponce de León & Rodríguez 2010, FishBase 2013), separable de *G. puncticulata* y *Gambusia rhizophorae* (Rivas, 1969), presentes ambas en Cuba (Lara et al. 2010, Ponce de León & Rodríguez 2010). *Gambusia punctata* fenotípicamente se diferencia de la *G. puncticulata*, por la presencia de un "sistemas de puntos o bandas de manchas" en la región lateral y aleta caudal, ya que en esta especie las bandas de puntos están uniformemente en la región lateral pero escasos puntos en la región de la aleta caudal, mientras que la disposición de puntos en la especie *G. puncticulata* es viceversa (Eigenmann 1903, Ponce de León & Rodríguez 2010).

Tamaño apropiado. En cuanto al tamaño de la especie, los machos alcanzan de 3,0 a 3,5 cm de longitud, tienen el cuerpo alargado y la aleta anal transformada en un larguísimo gonopodio eréctil que constituye el órgano copulador durante la fecundación (Kobelkowsky & Alva-García 2000). En tanto, las hembras más redondeadas llegan a medir más de 7 cm de longitud, presentando una gran aleta caudal (Ponce de León & Rodríguez 2010). Estas longitudes han sido consideradas de forma significativas para validar por ejemplo; umbrales de concentración de metales pesados en órganos dianas como cerebro, hígado y branquias (Argota et al. 2012b, 2013b). Estudios realizados, registran que en condiciones de contaminación ambiental no

solo el tamaño natural de los peces puede verse afectado (Argota et al. 2012a), sino hasta la madurez sexual (Dadda et al. 2005).

El tamaño está ligado ambientalmente con su rol en la cadena alimentaria, donde la misma es variada a través de su ciclo de vida (Trujillo-Jiménez & Toledo 2007). En el proceso de crecimiento, el cambio en la relación de tamaño depredador-presa, va posibilitando que se varíe y/o amplíe la dieta. Tanto los alevines como juveniles se alimentan generalmente de organismos muy pequeños (incluso microscópicos) incluidos los del plancton, ya que estos son los únicos que tienen una capacidad natatoria nula o reducida, a la vez que son los que pueden pasar a través de su cavidad bucal (Rodríguez 2007, Falcón-Hildago et al. 2011). En esta etapa del ciclo de vida, los alevines de la especie principalmente, pueden ser clasificados como plantófaos hasta ir acentuando su capacidad de cazar presas pasando luego a la etapa adulta donde se alimentan no solo de organismos situados en el bentos, sino además de materia orgánica acumulada en los propios fondos (detritus). Otro patrón alimentario para su tamaño está relacionado con su capacidad del canibalismo siendo en tal sentido, bien voraces. La tasa alimentaria en la hembra es alta, mientras que en los machos es baja, quizás debido a su función reproductiva. Según Fong & Garcés (1997), no existen diferencias en sus dietas entre sexos.

En el tamaño, no existen diferencias entre una especie y otra, pero en ambas existe un dimorfismo sexual muy acusado. Puede señalarse que este ha sido, un criterio muy relacionado con la identificación y recolección de la especie *G. punctata*, en las campañas de toma de muestras para los estudios ambientales (Ponce de León & Rodríguez 2010).

Movilidad limitada y ciclo de vida relativamente largo. En cuanto a la movilidad

limitada que presenta *G. punctata*, no está referida la misma a la capacidad locomotora, ya que la forma de su cuerpo percoidea, le garantiza una excelente rapidez para alcanzar las presas y pronta huida tanto al acercamiento de un depredador, sino al espacio que ocupa para realizar su nicho ecológico. Precisamente la movilidad es limitada, debido a la ausencia de migraciones, debido a que la presencia de vegetación y piedras en los remansos lentos del curso de las aguas ofrecen todo el refugio y alimento para su desarrollo. *G. punctata* posee un desplazamiento bento-pelágico con predominio en la superficie del agua, debido en lo fundamental a medios con niveles bajos de oxígeno, así como alimentación flotante en la columna superior del medio acuático (Pyke 2005, Ponce de León & Rodríguez 2010).

Estudios de laboratorio realizados en condiciones simuladas de ambientes contaminados con dietas naturales relacionadas con alimentación administradas no a voluntad, muestran que su ciclo de vida es relativamente largo llegando la especie a existir por más de 32 meses, siendo muy importante este criterio para la ecotoxicología ambiental, ya que la principal ventaja estriba en poder monitorear la relación de biomarcadores en la especie con parámetros físico-químicos de calidad de las aguas y elementos tóxicos que pudieran estar biodisponibles (Argota *et al.* 2013a). Asimismo, en condiciones naturales el número de individuos capturados en cada estación seleccionada para el muestreo resulta significativo; y ello obedece principalmente, a la tasa de reproducción que es bien alta en las hembras, cuyo estado embrionario oscila entre 45 y 60 días aproximadamente (Argota *et al.* 2013b). El estado juvenil es de 4-5 semanas donde alrededor de las seis semanas, ya los machos comienzan a diferenciarse por el crecimiento del gonopodio, evidenciando una clara madurez sexual debido al comportamiento acosador para realizar la cópula más de una vez (Argota *et al.* 2013b).

En este periodo los machos pueden medir alrededor de 1,8 cm de longitud donde se diferencian con relación a las hembras en su menor peso corporal, pues a partir de las ocho semanas aproximadamente, es que este crecimiento en las hembras se hace notable (Ponce de León & Rodríguez 2010).

Tolerante a la contaminación. Este criterio ha estado muy relacionado con la recolección y para el análisis de algún contaminante no biodegradable o persistente como son los metales pesados (Pérez-León & Schmitter-Soto 2007). Los peces de la familia Poeciliidae con 600 especies aproximadamente, han sido introducidos en varias regiones del mundo, puesto que son útiles para el control biológico (biorreguladores) al eliminar larvas de mosquitos y enfermedades transmitidas a los seres humanos, fundamentalmente los géneros *Anopheles* y *Aedes* que constituyen un peligro importante para los cuerpos de aguas naturales y artificiales (Iannacone & Alvarino 1997, Vargas & Vargas 2003). *Gambusia punctata*, presenta un comportamiento euritérmico y eurialino donde soporta un amplio margen de condiciones de calidad ambiental, siendo tolerante a la contaminación.

Fácil manejo para estudios de laboratorios. *G. punctata* se estresa con frecuencia durante el muestreo y traslado a estantes y/o peceras. Su sensibilidad es tal, que puede hasta morir el número total de organismos capturados. Sin embargo, una vez que se logra el muestreo y traslado a las condiciones controladas de laboratorio, se adapta rápidamente, evidenciándose un porcentaje de viabilidad tanto en hembras como los machos alrededor del 98%. La alta viabilidad presentada por óvulos fértiles fecundados, permite el buen desarrollo embrionario para el nacimiento de alevines, crecimiento hasta individuos juveniles y finalmente, llegar a la madurez sexual como individuos adultos permitiendo realizar según Argota *et al.* (2012c) y Argota & González (2013), diversos estudios

ecotoxicológicos en condiciones controladas de laboratorio como por ejemplo; el comportamiento de niveles de proteínas y enzimas por exposición a metales pesados.

Correlación entre contaminante de interés y resto de las matrices ambientales.

Representa uno de los criterios más difíciles de evaluar, ya que para ello se necesita un equipo multidisciplinario, siendo tal condición la que permitió correlacionar el comportamiento de metales pesados en muestras ambientales abióticas como las aguas y sedimentos, conjuntamente con muestras bióticas como la *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (planta conocida como jacinto de agua), *Tarebia granífera* (Lamarck, 1822) (molusco bentónico), así como la propia especie *G. punctata* en el río Almendares (Lima 2005). No obstante, aun cuando estos resultados fueron considerados preliminares, representan una base exploratoria de aproximación para la evaluación ecotoxicológica de los metales pesados en el medio acuático para el territorio nacional de Cuba.

Finalmente, en este trabajo se concluyó que las siete características correspondientes a la especie *G. punctata*, permitió que se evaluaran los criterios seleccionados, por lo que puede considerarse esta especie biomonitor para los estudios en ecotoxicología acuática.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alayo, P. 1973. Lista de peces fluviales de Cuba. Torreia, nueva serie, 29:1-59.
- Argota, P.G.; González, P.Y.; Argota, C.H.; Fimia, D.R. & Iannacone, O.J. 2012a. Desarrollo y bioacumulación de metales pesados en *Gambusia punctata* (Poeciliidae) ante los efectos de la contaminación acuática. Revista electrónica veterinaria, 13: 05B en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Leído el 17 de septiembre del 2013.
- Argota, P.G.; Argota, C.H.; Larramendi, G.D.; Mora, T.Y.; Fimia, D.R. & Iannacone, O.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. Revista electrónica veterinaria, 13: 05B en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Leído el 16 de septiembre del 2013.
- Argota, P.G.; Iannacone, O.J. & Eguren, I.G. 2012c. Proteínas totales y factor de bioconcentración por exposición a metales en la *Gambusia punctata* (Poeciliidae). MEDISAN, 16: 1731-1735.
- Argota, P.G. & González, P.Y. 2013. Determinación enzimática y metales pesados en cerebro e hígado del modelo ecotoxicológico *Gambusia punctata* (Poeciliidae). MEDISAN, 17: 221-229.
- 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 de Veterinaria, 14: N° 6 en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> leído el 15 de septiembre del 2013.
- Argota, P.G.; Fimia, D.R. & Iannacone, J. 2013b. Análisis reproductivo y trófico en la especie *Gambusia punctata* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) del río San Juan. Revista electrónica de Veterinaria, 14: N° 6 en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> leído el 15 de septiembre del 2013.
- 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.
- Dadda, M.; Pilastro, A. & Bisazza, A. 2005.

- Male sexual harassment and female schooling behaviour in the eastern mosquito fish. *Animal Behaviour*, 70: 463-471.
- Díaz, M.M. 1995. Biomonitoring en sistemas lénticos: El uso de especies indicadoras. *Zoología informa*, 31: 17-35.
- Eigenmann, C.H. 1903. The fresh-water fishes of Western Cuba. *Bulletin of the United State fish Commission*, 2: 211-236.
- Falcón-Hidalgo, B.; Forrellat-Barrios, A. & Carrillo, F.O. & Ubieta, H.K. 2011. Digestive enzymes of two freshwater fishes (*Limia vittata* and *Gambusia punctata*) with different dietary preferences at three development stages. *Comparative Biochemical Physiology B Biochemical Molecular Biology*, 158: 136-141.
- Fishbase. 2013. *Gambusia punctata* Poey, 1854. En: <http://www.fishbase.org/summary/Gambusiapunctata.html> leído el 20 de septiembre del 2013.
- Fong, G.A. & Garcés, G.G. 1997. Notas sobre la alimentación de *Gambusia puncticulata*, Poey (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) en un hábitat marino. *Biodiversidad de Cuba Oriental*, 2: 54-58.
- Gómez-Manrique, W.; Machado-Neto, J.G. 2008. Toxicidad aguda y riesgo ambiental del fipronil para guppy (*Poecilia reticulata*). *The Biologist (Lima)*, 6: 85-93.
- Iannacone, J. & Alvarino, L. 1997. Peces larvivoros con potencial para el control biológico de estados inmaduros de zancudos en el Perú. *Revista peruana de Entomología*, 40: 9-19.
- Iannacone, J. & Alvarino, L. 1998. Ecotoxicidad aguda del zinc sobre "Guppy" *Poecilia reticulata*. *Wiñay Yachay*, 2: 67-74.
- Iannacone, J.; Onofre, R. & Huanqui, O. 2007. Efectos ecotoxicológicos del cartap sobre *Poecilia reticulata* "Guppy" (Poeciliidae) y *Paracheirodon innesi* "Neon Tetra" (Characidae). *Gayana*, 71: 170-177.
- Kobelkowsky, D.A. & Alva-García, A. 2000. Anatomía sexual de *Gambusia regani* (Pisces: Poeciliidae). *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 71: 133-142.
- Lara, A.; Ponce de León, J.L.; Rodríguez, R.; Casane, D.; Cote, G.; Bernatchez, L. & García-Machado, E. 2010. DNA barcoding of Cuban freshwater fishes: evidence for cryptic species and taxonomic conflicts. *Molecular Ecology Resources*, 10: 421-430.
- Lima, L.A. 2005. *Determinación de metales pesados en componentes bióticos y abióticos del río Almendares*. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Químicas. Instituto de Tecnologías y Ciencias Aplicadas. Ciudad de la Habana, Cuba.
- Manrique, W.G.; Figueiredo, M.A.P. & Machado-Neto, 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.
- Napán, K.; Llanos, C. & Paredes, C. 2010. Toxicidad aguda de metomilo en *Poecilia latipinna* (Lesueur 1821) (Poeciliidae). *The Biologist (Lima)*, 8: 21-28.
- 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.
- Pérez-León, S. & Schmitter-Soto, J.J. 2007. Distribución y Taxonomía del género *Gambusia* (Teleostei: Poeciliidae) en el norte y oriente de la Península de Yucatán, México. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo*, 23: 167-171.
- Ponce de León, G.J.L. & Rodríguez, S.R. 2010. *Peces cubanos de la familia Poeciliidae Guía de campo*. Editorial Academia. La Habana, Cuba.
- 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.
- Pyke, G.H. 2005. A review of the biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15: 339-365.
- Rodríguez, R. 2007. *Ecología de los peces del arroyo Govea, Bejucal. Provincia La Habana*. Tesis de Diploma. Facultad de Biología. Universidad de la Habana, 54 p.
- Rosenberg, D.M. & Pesh, W.H. 1993. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman & Hall. New York. 488 p.
- Sisinno, C.L. & Oliveira-Filho, E.C. 2013. *Principios de Toxicología Ambiental*. Editorial Interciência. Rio de Janeiro. 216p.
- Sloof, J.E. 1993. *Environmental Lichenology biomonitoring trace element air pollution*. Delft University of technology.
- Trujillo-Jiménez, P. & Toledo, B.H. 2007. Alimentación de los peces dulceacuícolas tropicales *Heterandria bimaculata* y *Poecilia sphenops* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Revista de Biología Tropical*, 55: 603-615.
- Vargas, V.M. & Vargas, C. 2003. Male and mosquito larvae survey at the Arenal-Tempisque irrigation project, Guanacaste, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 51:759-762.
- 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*, 606:135-150.

Received October 17, 2013.
Accepted November 25, 2013.