

Determinación de la CL_{50-96h} del hierro mediante pruebas toxicológicas sobre el “guppy” *Poecilia reticulata* (Peters, 1859)

Determination of the LC_{50-96h} of iron by toxicological tests on the “guppy” *Poecilia reticulata* (Peters, 1859)

Félix Huaranga Moreno

Laboratorio de ecología / Área de estrés ambiental
Av. Juan Pablo 11/S.N / Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo rhuaran@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0002-3557-0690>

Félix Huaranga Arévalo

Diderot 605/Urb. Rázuri-Trujillo / Agrosolutions S.R.L
ricardohuaranga@hotmail.com // <https://orcid.org/0000-0002-7445-9696>

Oscar Vela Horna

Asencio de Salas MZ-N2, Acuicultura del Norte SRL.
Aquanorth_855@hotmail.com//orcid.org/0000-0001-6194-189X

Oscar Vela Ramirez

Asencio de Salas MZ-N2, Acuicultura del Norte SRL.
oscar.vela17688@gmail.com//orcid.org/0000-0002-7694-4775

Resumen

Perú evidencia uno de los principales problemas ambientales y este se refiere a la contaminación minero metalúrgica e industrial básicamente por metales pesados como el cobre, zinc, hierro, cadmio, plomo, mercurio y otros, estos compuestos pueden llegar a los diversos cuerpos de agua por lixiviación o escorrentía. Los peces tienen la capacidad de almacenar en su organismo una concentración mayor de estos compuestos en comparación con el presente en el medio, por lo que son indicadores importantes de la contaminación. El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración letal media CL_{50-96h} de la especie de pez *Poecilia reticulata* bajo la acción del metal pesado hierro. Los bioensayos se realizaron usando 10 juveniles del “guppy” bajo las concentraciones ensayadas de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ de: 50,00; 74,76; 111,79; 171,04 y 250 mg/L, con tres replicas para cada concentración, observándose la mortalidad a las 24, 48, 72 y 96 horas de exposición. Se encontró que la concentración LC_{50-96h} para el hierro en los juveniles fue de 97,131 mg/L con unos límites de confianza inferior y superior de 85,765 y 109,333 mg/L. Se empleó, el programa estadístico Probit y la metodología de análisis de varianza, que son utilizados en pruebas de toxicidad para los ensayos agudos estáticos. Estos resultados, pueden ser útiles para la elaboración de criterios y estándares de calidad del agua para la protección de los sistemas acuáticos nacionales drásticamente afectados por contaminación minero metalúrgica e industrial.

Palabras clave: Bioensayos, metales pesados, toxicidad letal, LC_{50-96h}

Abstract

Peru evidences one of the main environmental problems and this refers to mining, metallurgical and industrial contamination basically by heavy metals such as copper, zinc, iron, cadmium, lead, mercury and others, these compounds can reach various bodies of water by leaching or runoff. Fish have the capacity to store in their organism a higher concentration of these compounds compared to what is present in the environment, which is why they are important indicators of contamination. The objective of this study was to determine the mean lethal concentration LC_{50-96h} of the fish species *Poecilia reticulata* under the action of the heavy metal iron. The bioassays were carried out using 10 juveniles of the “guppy” under the tested concentrations of $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ of: 50,00; 74,76; 111,79; 171,04 and 250 mg/L, with three replicates for each concentration, observing mortality at 24, 48, 72 and 96 hours of exposure. The LC_{50-96h} concentration for iron in juveniles was found to be 97,131 mg/L with lower and upper confidence limits of 85,765 and 109,333 mg/L. The Probit statistical program and the analysis of variance methodology were used, which are used in toxicity tests for static acute tests. These results can be useful for the elaboration of water quality criteria and standards for the protection of national aquatic systems drastically affected by mining, metallurgical and industrial contamination.

Keywords: Bioassays, heavy metals, lethal toxicity, LC_{50-96h}

Citación: Huaranga, F.; F. Huaranga; O. Vela & O. Vela. 2023. Determinación de la CL_{50-96h} del hierro mediante pruebas toxicológicas sobre el “guppy” *Poecilia reticulata* (Peters, 1859). *Arnaldoa* 30(1): 35-50 doi:<http://doi.org/10.22497/arnaldoa.301.30103>

Introducción

La contaminación por metales pesados es una de las formas más peligrosas de contaminación de las aguas continentales y marinas, debido a que no son biodegradables, contrariamente a la gran mayoría de los

contaminantes de tipo orgánico. Además, pueden ser bioacumulados en forma iónica o de compuestos orgánicos y permanecer en los organismos por largos períodos e incluso causarles la muerte (Campos, 1990; Saldaña, 2016; Acuña *et al.*, 2021).

Desde hace varios años, muchas instituciones mundiales están promoviendo programas de evaluación y conservación de la capacidad productiva de los recursos acuáticos vivos, para determinar fundamentalmente la interacción entre las actividades del hombre y el medio ambiente, incluyendo problemas de deposición de desechos y polución. Una de las prioridades es formular metodologías propias a fin de evaluar el estado de los ambientes acuáticos y su administración en relación a la protección de los recursos vivos, particularmente en ríos, lagos, lagunas, estuarios y áreas costeras, donde la polución ya presenta problemas urgentes (Valenzuela, 1983; Tommasi *et al.*, 1984; Rayme, 2015; Pinto & Valbuena, 2020).

Un aspecto importante del estudio de la contaminación acuática, es lo relacionado a las pruebas ecotoxicológicas de bioensayos que deben ser conducidos para las sustancias que comúnmente son eliminadas con los productos de desecho de las actividades del hombre, particularmente los relaves mineros. De estas sustancias, los metales pesados como el cobre, zinc, plomo, mercurio, arsénico, cadmio, cromo y hierro, que se encuentran en reacción de equilibrio en el ambiente acuático, frecuentemente son acumulados en los tejidos de los recursos vivos causando efectos de inhibición enzimática y teratológicos, así como en muchos casos la muerte subsecuente (Gallardo, 1984; Sánchez & Tupayachi, 1988; Conga, 2017; Dzul, 2018; Santillán, 2020; Chujutalli & Fustamante, 2020; Gastelum *et al.* (2019).

Los bioensayos de toxicidad permiten evaluar el grado de afectación que una sustancia química tiene en organismos vivos y éstos pueden ser agudos o crónicos. Las pruebas agudas cuantifican las concentraciones letales de un xenobiótico a

una especie en particular. El valor calculado se denomina concentración letal media (CL_{50}) y corresponde a la concentración de un xenobiótico que causa la muerte al 50 % de la población experimental al cabo de un tiempo determinado, generalmente en 48 o 96 horas. En contraste, las pruebas crónicas estiman la concentración - efecto medio (CL_{50}) de la sustancia de prueba que causa un efecto sobre el 50 % de la población experimental, al cabo de un tiempo determinado; dentro de las metodologías muy utilizadas para validar los bioensayos ecotoxicológicos se mencionan a las llamadas pruebas probit (Reish & Oshida, 1987; Corpus, 2010; Scotto *et al.*, 2016; Paredes & Miglio, 2018; Vásquez *et al.*, 2018).

Actualmente, se vienen empleando en casi todo el mundo, ensayos ecotoxicológicos como sistemas efectivos de alerta ambiental que orientan a la toma de decisiones nacionales en la protección de sus recursos naturales en busca del desarrollo sostenible de los países. El fundamento de estos ensayos ecotoxicológicos es la determinación de valores límites de las sustancias tóxicas en el ambiente, empleando a los sistemas biológicos como sensores ambientales.

Dentro de las investigaciones sobre bioensayos de toxicidad realizados en organismos acuáticos como los peces utilizando metales pesados y una serie de contaminantes podemos mencionar a: Doudoroff & Katz, 1953; Tompkins and Bridges, 1958; Anderson, 1964; Chung, 1978; Wiener, 1984; Gianotti, 1986; Corpus, 2010; Scotto *et al.*, 2016; Dzul, 2018; Pinto & Valbuena, 2020. En el Perú, los estudios de este tipo se van consolidando por la importancia de la generación de residuos tóxicos como los metales pesados de la industria minera, destacándose las

investigaciones de Bustamante (1978) en el “camarón de río” *Cryphiops caementarius*; Tommasi *et al.* (1984) en *Artemia salina*, Sanchez y Tupayachi (1988) en la “concha de abanico” *Argopecten purpuratus*; Rayme (2015) en la “trucha arco iris” *Oncorhynchus mykiss*; Saldaña (2016) en la “gamitana”; Scoto *et al.* (2016) en los “peces cebra” *Danio rerio*; Conga (2017) en *Rhinella spinosa*; Mamani (2020) en *Daphnia pulex*; Chujutalli & Fustamante (2020) en alevines de “paco”, “gamitana” y “trucha arco iris”; Acuña *et al.* (2021) en peces de la amazonía; Urviola, 2022 en *Poecilia reticulata*; quienes han reportado experimentos utilizando cobre, hierro, plomo, mercurio, aluminio, bario, hidrocarburos, sedimentos, insecticidas, detergentes, artículos de limpieza y aguas residuales de lagunas de oxidación. Todos estos metales pesados y contaminantes han demostrado efectos letales sobre las especies mencionadas aún cuando a diferentes concentraciones.

Por las consideraciones expuestas, se planteó investigar los niveles de toxicidad letal a diferentes concentraciones de hierro, y a distintos tiempos de exposición sobre *P. reticulata*; lo cual se verificó estimando el porcentaje de mortalidad en cinco concentraciones diferentes de hierro, para determinar la toxicidad letal en *P. reticulata*; y establecer la dosis letal media LC_{50-96h} para el contaminante probado, en un tiempo de 96 horas como máximo.

Material y métodos

La muestra biológica estuvo constituida por 360 ejemplares adultos de *P. reticulata* capturados en el dren derecho de Víctor Larco, Provincia de Trujillo, Departamento de La Libertad (Fig. 1, 2 y 3). El método utilizado fue el propuesto por Reish and Oshida (1987) para bioensayos estáticos de tipo respuesta letal directa y de corto

período; preparándose una solución stock de 1000 mg/L de hierro a partir de sulfato ferroso heptahidratado ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$). Posteriormente se realizó las diluciones apropiadas en agua filtrada de clorada colectada del aprovisionamiento de la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de Trujillo/Perú. El agua colectada tenía un pH de 7,1; una dureza de calcio de 20 a 30 mg/L; el oxígeno disuelto osciló entre valores de 5,5 y 6,5 mg/L de O_2 ; temperatura con un rango entre 18°C y 22°C, y sin la presencia de concentración alguna del metal experimentado. Luego se determinaron cinco concentraciones experimentales en mg/L, los que se seleccionaron a través de pruebas exploratorias de bioensayos.

Basándose en los protocolos establecidos por Reish & Oshida (1987), se utilizaron baterías de peceras de 2,0 L de capacidad, con cinco (5) concentraciones además del blanco, cada concentración con tres (3) réplicas de ensayo (peceras), para un total de dieciocho (18) peceras para la prueba toxicológica. En cada pecera se introdujeron diez organismos. El total de organismos utilizados son de treinta (30) por cada concentración y ciento ochenta (180) por prueba toxicológica. Para el montaje se ubicaron las peceras en un stand acondicionado para las pruebas en el laboratorio de Ecología de la Universidad Nacional de Trujillo/Perú (Fig.4 y 5). La lectura de las pruebas se realizó a las 24, 48, 72 y 96 horas de haberse iniciado la prueba, registrando cada resultado en una tabla de datos (Tabla 1). El cese del movimiento opercular fue el criterio utilizado para considerar la muerte del pez.

Los resultados de la prueba se obtuvieron por medio del análisis estadístico Probit (Ney and Stevens, 1948; Aytac, 2013) y utilizando el software estadístico SPSS 26,

con una confiabilidad del 95%, siguiendo un modelo matemático que asume una relación entre la dosis y la respuesta. Este calcula la CL_{50-96h} con sus respectivos límites de confianza, para ello se elaboró el protocolo “Análisis de regresión y Análisis Probit”.

El experimento fue planificado para utilizar un diseño completamente al azar, trabajando con cinco concentraciones, cuatro tiempos de registro y tres repeticiones para cada combinación de tratamiento (Calzada, 1970). La identificación de la especie se hizo utilizando la clave para peces teleosteos de Jordan and Evermann (1963).

Resultados

Los resultados de los bioensayos de toxicidad aguda se obtuvieron por medio del Método Probit, con una confiabilidad del 95%, siguiendo un modelo matemático que asume una relación entre la dosis y la respuesta. Este calcula la CL_{50-96h} con sus respectivos límites de confianza, para ello se elaboró el protocolo sobre “Análisis de regresión y Análisis Probit”. Luego de adquirir este resultado, se realiza el análisis de varianza, según el protocolo “Análisis de varianza - ANOVA”. Se trata de una técnica para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos entre las concentraciones de hierro. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar.

Del análisis experimental, se puede observar que la menor mortalidad para los juveniles del “guppy” sometidos a la acción de toxicidad aguda para el Fe, se obtuvieron en el tratamiento T2 a las 24 horas de experimentación, mediante el cual se estableció que la mortalidad aumentaba

con el incremento de la dosis de Fe (Tabla 1). En los experimentos la mortalidad en el grupo control fue de 0,00 %, por lo tanto la prueba puede ser referenciada como válida.

Para corroborar gráficamente esta información (Fig. 4) y con base en las Tablas 2 y 3, se realizó un gráfico de dosis-respuesta, porque tanto el análisis Probit como el gráfico de dosis-respuesta permiten utilizar una curva de respuesta sigmoidal como es el caso de la investigación presente, o transformarla mediante regresión lineal (Fig. 5). La ventaja del gráfico de dosis-respuesta es que no solo proporciona el valor de la DL_{50} , sino que también por ejemplo los correspondientes a la DL_{20} o DL_{80} (Tabla 4). En las Figs. 4 y 5; puede observarse la regresión Probit obtenida a partir de valores de mortalidad frente a las dosis de hierro.

La DL_{50-96h} de 97,131 mg/L determinada para el hierro en los cuales hubo el 50% de mortalidad de *P. reticulata*, se complementa con los límites superior e inferior con el 95% de probabilidad, los cuales están en el rango de 85,765 a 109,333 mg/L respectivamente (Anexo 3), con un R^2 de 97,09% que prueba la bondad de ajuste significativa del modelo Probit utilizado en la determinación experimental del DL_{50-96h} trabajando en las condiciones experimentales de laboratorio establecidas (Tabla 5).

Discusión

Las investigaciones sobre el particular, han confirmado que las especies presentan distintas sensibilidades a la toxicidad de los diversos metales, las cuales se deben en primer lugar a las variaciones biológicas naturales de la composición genética de las poblaciones y condiciones individuales de los peces. Es usual que la variación sea menor dentro de una especie, considerando los estadios, la condición de salud, condiciones

del medio natural de origen; y mayor entre especies (Zakaria *et al.*, 2016). Asimismo, los resultados obtenidos en los ensayos de toxicidad podrían estar influenciados por la historia de vida de los peces empleados, de donde provienen (OECD, 2014).

Asimismo, el efecto letal de los metales como es el caso del hierro, ha sido relacionado con la coagulación del mucus de la superficie de las agallas, daño al tejido de las agallas y consecuentemente falla en la respiración (Authman *et al.*, 2015). Características como el incremento del movimiento opercular han sido observados en peces expuestos a algunos metales pesados, como es el caso de la presente investigación (Wang *et al.*, 2013). Los síntomas por intoxicación aguda de metales pesados en peces comprenden, rigidez del cuerpo, disminución de la motilidad y suspensión en la zona superficial con la parte posterior del cuerpo dirigida hacia el fondo; estos síntomas son seguidos por la pérdida de balance y finalmente por el hundimiento del individuo en el fondo antes de la muerte (Sehgal & Saxena, 1987). Todos estos síntomas fueron observados durante los ensayos experimentales de laboratorio.

La diferencia del nivel de toxicidad del metal pesado hierro del presente estudio y otras investigaciones, podrían estar relacionadas con los siguientes factores: características del agua de dilución (dureza, pH, temperatura, entre otros), características químicas del metal experimentado, especies y estadios (larva, alevín, juvenil, adulto) de los organismos de prueba, y aclimatación, entre otros, los cuales pueden modificar la toxicidad de los metales (Sprague, 1985, Spehar & Fiandt, 1986). En agua blanda, el efecto tóxico de los metales puede llegar a ser de 5 a 30 veces más potente que en agua dura (Canton & Slooff, 1982). En los

diversos estudios, se ha registrado que a mayor tiempo de exposición la CL_{50} disminuye, es decir que, el contaminante se vuelve más tóxico, y la tasa de individuos afectados, de manera letal y subletal, se incrementa (Zakaria *et al.*, 2016).

Particularmente, en el caso de los estadios de los organismos vivos, algunos investigadores indican que las larvas generalmente son el estadio más sensible de los peces para contaminantes, tales como los metales (Alsop & Wood, 2011). Sin embargo, muchos estudios, han demostrado tener resultados opuestos, como el de Buhl & Hamilton (1991) quienes identificaron que los juveniles fueron más sensibles a los tóxicos (entre ellos arsénico, cadmio y mercurio) que los alevines.

Con los valores de mortalidad de los organismos a cada concentración de hierro ensayados (Tabla 1), se observa que la sensibilidad de *P. reticulata* está relacionado con el efecto combinado de las formas inorgánicas del hierro, mayormente Fe^{2+} y $FeCO_3$, de acuerdo a Sprague (1964), Rehwoldt *et al.* (1971) y Romano *et al.* (2021). La calidad de las aguas, especialmente de las aguas blandas, fue corroborada también por Scotto *et al.* (2016) y Scotto *et al.* (2019) en su estudio de 10 especies de peces dulceacuícolas, dentro de las cuales se encuentra *P. reticulata*. Este mismo fenómeno se observa en la experiencia realizada por Bustamante (1978) en el camarón de río *C. caementarius*, en donde no obstante haber utilizado agua potable dura, los LC_{50-96h} para metales como el cobre, zinc y hierro tuvieron este mismo comportamiento.

Asimismo, Alabaster and Lloyd (1980), manifiestan que las concentraciones mayores a 10 mg/L de hierro son letales para los organismos acuáticos, la diferencia

puede ser atribuida mayormente a las diferentes durezas del agua, especies de organismos, duración de la prueba y fase del ciclo de vida.

En relación con el hierro, Doudoroff & Katz (1953) en aguas blandas, encontraron que para el *C. auratus*, un LC_{50} de 37 mg/L a 96 horas, que difiere significativamente del valor obtenido para *P. reticulata* cuyo LC_{50} fue de 97,131 mg/L (Tabla 3 y Anexo 3). En crustáceos, Anderson (1964) determinó una LC_{50} para *Daphnia magna* del lago Erie de 30,62 mg/l, en cambio Bustamante (1978) reporta para el "camarón de río" *C. caementarius* una LC_{50} de 102,74 mg/l de hierro en agua dulce dura.

Conociéndose que la respuesta de los organismos acuáticos a la toxicidad de los metales pesados está determinada por una serie de variables, Wiener (1984) y Gianotti (1986), afirman que la respuesta más sobresaliente se da a nivel de las diferentes durezas del agua de experimentación, de aquí que la variación de los valores LC_{50} a diferentes durezas pueden ser debidas a variaciones en la sensibilidad de las branquias de estos organismos, frente a distintas durezas y metales o que las tasas en las cuales se dañan las branquias son diferentes y dependen de la combinación de dureza y metales.

En la Fig. 1, se observa que conforme avanza el tiempo de exposición la LC_{50} disminuye, tal como sucede en otras especies experimentadas (Chung, 1978; Bustamante, 1978; Ahsanullah & Arnott, 1978), sugiriendo que una relativa prolongada exposición es necesaria para permitir una adecuada concentración de estos contaminantes a fin de penetrar en los tejidos de los organismos sometidos a las pruebas de bioensayo.

Conclusiones

De los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

La concentración letal de hierro de 250 mg/l causó el 96,66 % de mortalidad en *P. reticulata* en un tiempo de 24 horas, siendo su LC_{50-96h} de 97,131 mg/L a las 96 horas de exposición.

P. reticulata, por ser una especie resistente al contaminante probado, puede servir de indicador biológico del grado de contaminación de peces de agua dulce.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Trujillo, al Laboratorio de Ecología y Medio Ambiente, por financiar parte de la presente investigación a través del Fondo de Cooperación de la UNT, a Feliciano Bernui, por sus comentarios a lo largo de la ejecución de la investigación y a José Avalos por la revisión del manuscrito.

Contribución de los autores

F. H., F. H., O.V & O. V: Los autores realizaron las actividades de obtención del material biológico, experimentación, la redacción del manuscrito y aprobación del mismo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Literatura citada

- Acuña, D.; D. Contreras; A. Guillen, & R. Valencia. 2021. Efecto en peces por presencia de hidrocarburos en la laguna Atiliano (Loreto, Perú). OEFA.
- Ahsanullah, M. & G. Arnott. 1978. Acute toxicity of copper, cadmium and zinc to larval of crab *Paragrapsus quadridentatus* (H. Milne Edwards), and implications for Water Quality Criteria. Aus. J. Mar. Freshwater Res. 29: 1-8.

- Alabaster, J. & R. Lloyd.** 1980. Water quality criteria for freshwater fish. Butterworth Publishers Inc. Boston. EE.UU.
- Alsop, D. & C. Wood.** 2011. Metal uptake and acute toxicity in zebrafish: common mechanisms across multiple metals. *Aquat. Toxicol.* 105: 385-393.
- Anderson, B.** 1964. The toxicity thresholds of various substance found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*. *Sewage Works Jour.* 16:1156.
- Authman, M.; M. Zaki; E. Khallaf & H. Abbas.** (2015). Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *J. Aquac. Res. Development.* 6: 1-13.
- Aytac, A.** 2013. The calculation of LD 50 using Probit analysis. *The FASES Journal*, 27: 1217 - 18.
- Buhl, K. & S. Hamilton.** 1990. Comparative toxicity of inorganic contaminants released by placer mining to early life stages of salmonids. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 20: 325-342.
- Bustamante, F.** 1978. Bioensayos de contaminantes metálicos hídricos y su efecto en el camarón juvenil *Cryphiops caementrius* (M). Tesis Ingeniería Pesquera. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Perú.
- Calzada, J.** 1970. Métodos estadísticos para la investigación. 3ra. Ed. Edit. Jurídica. Lima. Perú.
- Campos, N.** 1990. La contaminación por metales pesados en la Ciénaga Grande de Santa María, Caribe Colombiano. *Caldasia.* 16: 231-244.
- Canton, J. & W. Slooff.** 1982. Toxicity and accumulation studies of Cadmium (Cd²⁺) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 6 (1): 113-128.
- Conga, K.** (2017). Efecto toxicológico agudo del cloruro de mercurio En larvas de *Rhinella spinulosa* Weigeman. Tesis para Optar el Título Profesional de Bióloga, Especialidad Ecología y Recursos Naturales. Univ. Nac. San Cristobal de Huamanga, Ayacucho, Perú. 64 pp.
- Corpus, A.** 2010. Determinación de la concentración letal media (CL_{50-96}) del aluminio mediante pruebas ecotoxicológicas utilizando alevines de *Oncorhynchus mykiss* (Trucha arco iris). *Rev. Ciencia Univ. La Salle. Bogota, Colombia.* 511.
- Chujutalli, K. & A. Fustamante.** 2020. Análisis comparativo del efecto toxicológico del detergentes en alevines de “Paco”, “Gamitana” y “Trucha Arco Iris”. Tesis para Optar el Título de Ingeniero Ambiental. Univ. Privada Unión. Tarapoto, Perú. 21 pp.
- Chung, K.** 1978. Efectos letales del cadmio, cromo, cobre y zinc en *Nerita fulgurens*. *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente.* 17: 31-33.
- Dzul, R.** 2018. *Gambusia yutacana* como modelo para estudios ecotoxicológicos en ecosistemas acuáticos de la península de Yucatan: Libro: Contribuciones al conocimiento de la ecotoxicología y química ambiental. Instituto Politécnico Nacional. México. Vol. 2.
- Doudoroff, P. & M. Katz.** 1953. Review of literatura on the toxicity of industrial wastes an their components to fish. The metals as salts. *Sewage and Industrial Wastes.* 25:802.
- Gallardo, V.** 1984. Revisión actualizada a 1983 de la contaminación marina proveniente de fuentes terrestres en la región del pacífico Sudeste (Colombia, Chile, Ecuador, Panamá y Perú). *Rev. Com. Perm. Pacifico Sur.* 14: 19-173.
- Gastelum, A.; A. Aquino & L. Aldama.** 2019. Efecto del cloruro de cadmio durante el desarrollo larvario de la “rana toro” *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802). *Acta Universitaria.*
- Gianotti, E.** 1986. Contaminacao das aguas pelo zinco: a dureza da agua como un factor de modifcaao da toxicidade do zinco a peixes. *Rev. DAE.* 46: 187-193.
- Jordan, D. & B. Evermann.** 1963. The fishes of north an middle américa. Bulletin 47. United States National Museum. Smithsonian Institution. Washington D.C. EE.UU.
- Mamani, B.** 2020. Evaluación ecotoxicológica mediante bioensayo con *Daphnia pulex* en sedimentos del río Suches, Cojata frontera Perú-Bolivia. Tesis para Optarel Título Profesional de Ingeniero Ambiental. Univ. Peruana Unión. Juliaca, Perú. 142 pp.
- Ney, D. & W. Stevens.** 1948. A table for tehe calculations of working Probites and weights in Probites analysis. *Biometrika,* 35 (1 – 2): 191 – 201.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD).** 2014. Guideline for testing of chemicals. *Fish, Acute Toxicity Test.* 21 pp.
- Paredes, C. & M. Miglio.** 2018. Evaluación del riesgo ecológico de la barita (BaSO₄) empleando pruebas ecotoxicológicas con doce organismos. *Ecología Aplicada, Vol.* (17): 1.

- Pinto, J. & R. Valbuena.** 2020. Concentración letal media CL_{50-96} de las especies de peces *Prochilodus magdalenae* y *Pimelodus grosskopfii* al principio activo de fungicidas Cyproconazole utilizado en el cultivo de café en el departamento del Huila. Ingeniería y Región. Vol (24).
- Rayme, C.** 2015. Respuesta toxicológica de alevinos de trucha “arco iris” *Oncorhynchus mykiss* frente a dos detergentes comerciales en cuatro concentraciones. Tesis para Optar el Título Profesional de Bióloga, Especialidad Ecología y Recursos Naturales. Univ. San Cristobal de Huamanga, Ayacucho, Perú. 84 pp.
- Reish, D. & P. Oshida.** 1987. Manual of methods in aquatic environment research. FAO Fish. Tech. Pap. 247:4-62.
- Rehwoldt, R.; R. Vida & B. Nerrie.** 1971. Acute toxicity of copper, nickel and zinc ions to some Hudson river fish species. Bull. Envir. Contam. Toxicol. 6:445-448.
- Romano, N.; V. Kumar & A. Kumar.** 2021. Implications of excessive water iron to fish health and some mitigation strategies. Global Aquaculture Advocate. <https://info-ras.cl/implicancias-del-exceso-de-hierro-en-el-agua-para-la-salud-de-los-peces-y-algunas-estrategias-de-mitigacion/>
- Saldaña, M.** 2016. Toxicidad del insecticida firponil en estadios de post larva y alevinos de “Gamitana” *Colosoma macroporum* (Cuvier, 1818). Tesis para Optar el Título de Biólogo, con Mención en Recursos Hidrobiológicos. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 55 pp.
- Sánchez, G. & M. Tupayachi.** 1988. Pruebas preliminares sobre toxicidad aguda del cobre en la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*). H. Salzwedel y A. Landa (Eds). Recursos y dinámica del ecosistema de afloramiento peruano, pp. 191-194. Inf. Inst. Mar. Callao. Perú.
- Santillan, M.** 2020. Ecotoxicología. El efecto de contaminantes en especies acuáticas. Ciencia UNAM-DGDC. México.
- Scotto, C.; M. Arrilucea; G. Vargas & J. Ybañez.** 2016. Implementación de una metodología toxicológica para la rápida determinación del CL_{50} del sulfato de cobre en peces cebra (*Danio rerio*) a 24, 48, 72, 96 y 120 horas de exposición. Cátedra Villarreal. Lima, Perú. Vol (4):185-190.
- Scotto, C. ; R. Rondón & C. Arriola.** 2019. Determinación de la concentración letal media (cl_{50}) producida por el sulfato de cobre pentahidratado en diez especies de peces dulceacuícolas bioindicadores utilizados en el Perú. Ciencia y Desarrollo. Vol 22 (4): 49 – 57.
- Sehgal, R. & A. Saxena.** 1987. Determination of acute toxicity levels of cadmium and lead to the fish *Lebistes reticulatus* (peters). Int. J. Environ. Stud. 29: 157-161.
- Spehar, R. & J. Fiandt.** 1986. Acute and chronic effects of water quality criteria-based metal mixtures on three aquatic species. Environ. Toxicol. Chem. 5: 917-931.
- Sprague, J.** 1964. Lethal concentration of copper and zinc for young Atlantic Salmon. J. Fish. Res. Bd. Can. 21:17-26.
- Sprague, J.** 1985. Factors that modify toxicity. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology (Rand GM, Petrocelli, SR (Eds.), Hemisphere Publishing. Washington, DC. p: 124-163
- Tommasi, L.; Momo, K.; N. Pereira & V. Albitres.** 1984. Efecto letal del cloruro de mercurio sobre los primeros estadios del desarrollo de *Artemia salina* (L). A. Tresierra (ed). Anales I Congreso de Biología Pesquera, pp. 225-229. Colegio de Biólogos del Perú. Trujillo-Perú.
- Tompkins, W. & C. Bridges.** 1958. The use of copper sulphates to increase fyke-net catches Progressive. Fish. Culturist. 20:16-20.
- Urviola, Y.** 2022. Evaluación ecotoxicológica de los efluentes de la laguna de oxidación el espinar, en la bahía interior de lago Titicaca de la ciudad de Puno. Tesis para Optar el Grado Académico de Maestro en Ciencias, con Mención en Ingeniería Ambiental. Univ. Nac. de San Agustín. Arequipa, Perú. 76 pp.
- Vásquez, P.; R. Meza, R.; F. Gutierrez; V. Ruiz; J. Villalobos; J. Montes & A. Fernández.** 2018. Determinación del CL_{50} y CE_{50} de Endosulfan lactona y Diazinon en lombriz de tierra. Agroproductividad. Vol. (11) 4.
- Valenzuela, F.** 1983. Contaminación de las aguas continentales marinas. Bol. Of. Sanit. Panam. 94:413-414.
- Wang, H.; Y. Liang; S. Li & J. Chang.** 2013. Acute toxicity, respiratory reaction, and sensitivity of three cyprinid fish species caused by exposure to four heavy metals. Plos one. 8: 1-7.
- Wiener, R.** 1984. Bioaccumulation and toxicity of copper as affected by interactions between humic acid and water hardness. Water. Res. 19:449-455.

Anexo tablas y gráficos

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad de *P. reticulata* según concentraciones letales de hierro, en relación a los tiempos de exposición.

METAL	CT (ppm)	RPT	TIEMPO EN HORAS				Acumulado	Mortalidad (%)
			24	48	72	96		
Control	0,00	1	0	0	0	0	0	0
	0,00	1	0	0	0	0	0	0
	0,00	1	0	0	0	0	0	0
Fe	50,00	2	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0
		2	2	0	0	0	0	20
	74,76	3	2	0	0	0	3	20
		3	2	2	0	0	4	40
		3	2	1	0	0	3	30
	111,79	4	4	2	0	0	6	60
		4	3	2	0	0	5	50
		4	3	3	2	0	6	80
	171,04	5	9	0	0	0	9	90
		5	8	0	0	0	9	80
		5	8	0	0	0	9	90
	250,00	6	10	0	0	0	10	100
		6	10	0	0	0	10	100
		6	9	0	0	0	9	90

CT = Concentración RPT= Repetición

Tabla 2. Valores de mortalidad en (%) según concentraciones letales de hierro, para la prueba de 96 horas en juveniles de guppy *Poecilia reticulata*.

TRATA-MIENTO	CONCENTRACION (mg/L)	Nº PECES/ TRATAMIENTO	Nº PECES/ MUERTOS	(%) MORTALIDAD
1	CTR = 0,00	30	0	0
2	C1 = 50,00	30	1	3,33
3	C2 = 74,76	30	10	33,33
4	C3 = 111,79	30	19	63,33
5	C4 = 171,04	30	27	90,00
6	C5 = 250,00	30	29	96,66

CTR : Control C = Concentración

Tabla 3. Valores de Ln de concentración, N total por tratamiento, mortalidad, p_x y valores de Probit, para la prueba de 96 horas en juveniles de guppy *Poecilia reticulata*.

T	C (mg/L)	Ln de C	N	M	p_x	Probit
1	CTR = 0,00		30	0	0,001	1,910
2	C1 = 50,00	3,912	30	1	0,033	3,119
3	C2 = 74,76	4,314	30	10	0,333	4,561
4	C3 = 111,79	4,717	30	19	0,633	5,331
5	C4 = 171,04	5,142	30	27	0,900	6,282
6	C5 = 250,00	5,521	30	29	0,967	6,751

T = Tratamiento C = Concentración CTR = Control Ln de C = Logaritmo natural de la concentración N = Número total de individuos por tratamiento M= Mortalidad p_x = proporción de muertos Probit = Valores de probit

Tabla 4. Valores de LC_{50-96h} del hierro para especímenes adultos de *P. reticulata*.

METAL	CL_{50-96H} (mg/L)	L.INFERIOR (mg/L)	L.SUPERIOR (mg/L)	R ²
HIERRO	97,131	85,765	109,333	0,511

Tabla 5. Obtención directa de los valores de DL_{50-96h} a diferentes valores Probit y cálculo mediante fórmula.

DL 50 / 96 horas y Límites de Confianza							
	Valores de DL 50 y Límites de Confianza				Valores de logaritmos para cálculo de la DL_{50}^a		
	Probabilidad	Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT	,010	33,992	22,594	43,600	3,526	3,118	3,775
	,020	38,443	26,614	48,198	3,649	3,281	3,875
	,030	41,563	29,519	51,380	3,727	3,385	3,939
	,040	44,077	31,905	53,923	3,786	3,463	3,988
	,050	46,234	33,981	56,093	3,834	3,526	4,027
	,060	48,152	35,850	58,017	3,874	3,579	4,061
	,070	49,899	37,569	59,764	3,910	3,626	4,090
	,080	51,518	39,174	61,379	3,942	3,668	4,117
	,090	53,035	40,689	62,892	3,971	3,706	4,141
	,100	54,471	42,132	64,322	3,998	3,741	4,164
	,150	60,843	48,624	70,670	4,108	3,884	4,258
	,200	66,435	54,407	76,274	4,196	3,996	4,334
	,250	71,640	59,827	81,553	4,272	4,091	4,401
	,300	76,660	65,056	86,733	4,339	4,175	4,463
	,350	81,627	70,198	91,971	4,402	4,251	4,521
	,400	86,636	75,326	97,398	4,462	4,322	4,579
	,450	91,775	80,497	103,140	4,519	4,388	4,636
	,500	97,131	85,765	109,333	4,576	4,452	4,694
	,550	102,798	91,192	116,137	4,633	4,513	4,755
	,600	108,896	96,851	123,747	4,690	4,573	4,818
	,650	115,579	102,847	132,422	4,750	4,633	4,886
	,700	123,067	109,331	142,532	4,813	4,694	4,960
	,750	131,692	116,536	154,644	4,880	4,758	5,041
	,800	142,009	124,847	169,715	4,956	4,827	5,134
	,850	155,060	134,982	189,571	5,044	4,905	5,245
	,900	173,199	148,535	218,438	5,154	5,001	5,387
	,910	177,889	151,958	226,119	5,181	5,024	5,421
	,920	183,128	155,748	234,798	5,210	5,048	5,459
	,930	189,068	160,004	244,756	5,242	5,075	5,500
	,940	195,929	164,872	256,415	5,278	5,105	5,547
	,950	204,058	170,576	270,437	5,318	5,139	5,600
	,960	214,041	177,495	287,949	5,366	5,179	5,663
	,970	226,986	186,341	311,117	5,425	5,228	5,740
	,980	245,414	198,714	344,951	5,503	5,292	5,843
	,990	277,543	219,763	406,166	5,626	5,393	6,007

a. Base de logaritmo = 2,718.



Fig. 1. Obtención de guppys adultos del dren sur del distrito de Víctor Larco, provincia de Trujillo, la Libertad, Perú.



Fig. 2. Aclimatación de los especímenes prueba.



Fig. 3. Stand de peceras experimentales para las pruebas de bioensayo.

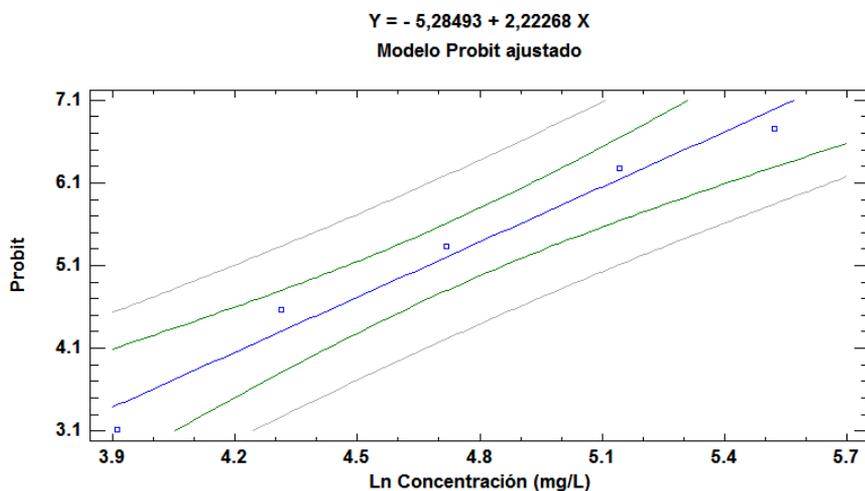


Fig. 4. Gráfico del modelo Probit logaritmizados de LC_{50-96h} del hierro para juveniles de *P. reticulata*

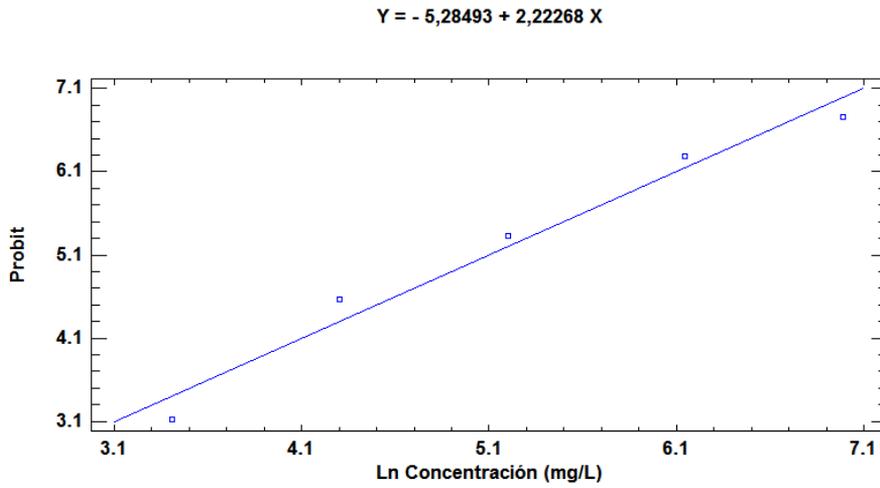


Fig. 5. Gráfico de valores Probit logaritmizados de LC_{50-96h} del hierro para juveniles de *P. reticulata*

