



INFORME TOXICOLOGICO

---

## CONTAMINACION DEL AGUA

**Dra. Q.F. Adriana Cousillas**

1. Movimiento de residuos de metales pesados en el medio ambiente
2. Contaminación del agua por petróleo - Los efectos de la contaminación por petróleo
3. Distribución y niveles de metales pesados en agua
4. Niveles de metales en plantas y algas acuáticas
5. Niveles de metales pesados en invertebrados acuáticos
6. Distribución y niveles de metales pesados en peces
7. Factores que afectan la acumulación de metales pesados en peces
  - Vía de entrada de los metales pesados. Ingestión *versus* absorción de agua
  - Dieta
  - Estación del año
  - pH del agua
  - Concentración de sales en agua
  - Concentración de materia orgánica disuelta (DOM)
  - Diferencias Interespecíficas
  - Diferencias entre sexos
  - Tamaño corporal
8. Toxicidad de metales pesados para los peces
  - Toxicidad del Zn
  - Toxicidad del cadmio
  - Toxicidad del plomo
  - Toxicidad del cobre
  - Toxicidad del cromo
  - Toxicidad del mercurio
9. Efectos provocados por los metales pesados
  - Parámetros generales
  - Mortalidad y crecimiento
  - Efectos sobre el comportamiento migratorio
  - Efecto sobre el comportamiento predador

- Efectos hematológicos
- Efectos sobre bioquímica sanguínea
- Otros efectos
- Hallazgos anatomopatológicos

#### 10. Factores que afectan la toxicidad de metales pesados

- Dureza del agua
- Concentración de oxígeno disuelto
- Efecto de la salinidad del agua
- Efecto de la temperatura del agua
- Influencia de agentes quelantes
- Edad de los peces
- Sexo

#### 11. Fenómeno de adaptación - Factor que modifica la toxicidad de metales pesados

#### 12. Bibliografía

---

### 1. Movimiento de residuos de metales pesados en el medio ambiente

Las sales solubles en agua de los metales pesados como el plomo, cadmio y mercurio son muy tóxicas y acumulables por los organismos que los absorben, los cuales a su vez son fuente de contaminación de las cadenas alimenticias al ser ingeridos por alguno de sus eslabones.

Si bien los metales pesados tienen una actividad tóxica reconocida a concentraciones altas, los organismos vivos tienen necesidad vital de alguno de ellos, ya que son necesarios para diversas funciones fisiológicas.

El **Zinc** forma parte de más de 100 metaloenzimas (enzimas con un mineral en su estructura). Es esencial en la síntesis de DNA, en procesos implicados en la inmunidad, curación de las heridas, percepción del sentido del gusto, síntesis de esperma y el desarrollo físico normal. Se han encontrado niveles elevados de Zn en gónadas de peces, sobre todo de hembras porque juega un papel fisiológico esencial en la fertilización y por tanto, se almacena como reserva en los oocitos femeninos (Hamza-Chaffai *et al.*, 1996). La hipótesis de que el zinc ( $Zn^{2+}$ ) podría tener una función fisiológica como parte de las defensas antioxidantes del organismo surge a partir del hallazgo de que la deficiencia de  $Zn^{2+}$  está asociada a una situación de estrés oxidativo. Así, utilizando modelos de deficiencia de  $Zn^{2+}$  en animales se han descrito elevados niveles de daño oxidativo a distintos componentes celulares (Sullivan *et al.*, 1980; Tate *et al.*, 1999).

El zinc (Zn) está presente en la corteza terrestre en una concentración media de 70 mg/Kg., donde no se suele encontrar de forma libre, sino formando complejos con sulfuros, carbonatos y óxidos.

Se utiliza en la fabricación de hardware y componentes eléctricos. También se emplea para formar aleaciones con otros metales, como el níquel, aluminio, bronce. Otro uso, también muy extendido, es para galvanizar, previniendo así la corrosión de otros metales como el hierro. Derivados del Zn, como el óxido de Zn se utiliza en pinturas, cosméticos, productos parafarmacéuticos, plásticos, baterías, textiles y el sulfuro de Zn se utiliza en fluorescentes, rayos X y pantallas de TV.

La contaminación principal de Zn en el medio ambiente proviene de los residuos industriales derivado de sus usos.

El **cobre** es un metal común en la naturaleza, que en los seres vivos está involucrado en reacciones redox, forma parte esencial de la citocromo oxidasa y también es constituyente de numerosas enzimas. Es fundamental en la absorción de hierro y en la síntesis de hemoglobina. Esto significa que el metabolismo normal del Cu debería estar relacionado tanto con bajas como con altas concentraciones corporales.

En la corteza terrestre, el cobre (Cu) se encuentra a una concentración aproximada de 70 ppm y en una gran variedad de formas. Así mismo, forma dos tipos de sales con las dos valencias  $\text{Cu}^{1+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$  que suelen ser muy estables en el medioambiente (Budavari, 1996).

El Cu se descarga ampliamente de fuentes puntuales (plantas industriales de metales y de otras industrias, como refinerías y fundiciones), vertidos domésticos, botes de pintura y lixiviados metálicos, así como de fuentes más lejanas como la escorrentía que arrastra fertilizantes, pesticidas, deposición atmosférica, tratamientos antialgas de aguas, etc.

El **cadmio** es tóxico y el envenenamiento se produce al inhalarlo o ingerirlo, tiene gran tendencia a formar compuestos complejos acuosos en los que se une de uno a cuatro ligandos. Sus compuestos más importantes en la industria son el cianuro, la amina y varios complejos de haluros.

Los niveles de cadmio (Cd) en la corteza terrestre están entre 0,1-0,5  $\mu\text{g/g}$ , en la atmósfera entre 0,1-5  $\text{ng/m}^3$ , en los sedimentos marinos aproximadamente 1  $\mu\text{g/g}$ , en el agua marina aproximadamente 0,1  $\mu\text{g/L}$  (Clark, 1992) y en agua de río la concentración de Cd disuelto está entre 1-13,5  $\text{ng/L}$  (WHO, 1992).

En la industria, se aprovecha del Cd su gran resistencia a la corrosión, su bajo punto de fusión y al ser un excelente conductor eléctrico, su uso se ha derivado en pigmentos, revestimientos, pinturas y baterías recargables de níquel-cadmio.

El Cd, como fuente de polución en el medioambiente, proviene primariamente de efluentes industriales (fundición del cobre, zinc, plomo y níquel) y municipales, así como de la deposición atmosférica procedente de la combustión de plásticos, combustibles de automóviles, gomas y del humo de tabaco.

Según Clark (1992), las emisiones atmosféricas de Cd, consideradas como la ruta principal de entrada al medioambiente, son primariamente antropogénicas y se han estimado en unas 7.300 Ton/año, comparadas con las 960 Ton/año de fuentes naturales.

La actividad volcánica es la mayor fuente natural de Cd a la atmósfera que se estima entre 100-500 Ton/año (WHO, 1992). El vulcanismo profundo de los océanos es otra fuente natural que se ha estimado que lanza aproximadamente 1000 Ton/año (Nriagu y Pacyana, 1988).

El Cd es un constituyente natural en algunas rocas, encontrándose en forma de sulfuro, carbonato y óxido de Cd. De esta forma son prácticamente insolubles en agua, pero en la naturaleza se pueden transformar a compuestos más solubles, como nitratos y haluros. Según un informe, elaborado por Organización Mundial de la Salud (WHO, 1992), el lavado de las rocas enriquece con cantidades significativas de Cd a los ambientes acuáticos, estimándose la entrada anual en 15.000 Toneladas (Ton).

La contaminación del agua por cadmio es provocada por las principales áreas de aplicación que arrojan sus desechos a las alcantarillas, como son el acabado de metales, la electrónica, la manufactura de pigmentos (pinturas y agentes colorantes), de baterías (cadmio níquel), de estabilizadores plásticos, de plaguicidas (fungicidas), la electro deposición o la aleaciones de hierro, en la producción de hierro y zinc, y en el uso de reactores nucleares.

En 1965 se informó en Japón de la muerte de más de 100 personas por contaminación por cadmio, el cual afecta principalmente a los huesos. El cadmio es tóxico para todas las formas de vida y en el hombre puede provocar daños en el aparato digestivo, en riñones y en los huesos (produce descalcificación y lesiones en la médula ósea) e inhibir algunos procesos enzimáticos. La inhalación de sus vapores produce severas lesiones en los pulmones. Además se ha observado que el cadmio tiene relación con la hipertensión arterial, la que origina enfermedades cardíacas.

Cuando el agua está contaminada por ácidos es más fácil la contaminación por metales que cuando no contiene ácidos.

La concentración media de **plomo** (Pb) en la tierra es de 1,6 g por cada 100 kg de suelo (Pain, 1995) y según Clark (1992), la producción total de plomo ronda los 43 millones de toneladas/año.

En la naturaleza, el  $Pb^{2+}$  es la forma estable del Pb, pero también forma complejos poco solubles con carbonatos, sulfuros, sulfatos e hidróxidos. Los compuestos orgánicos (derivados alquílicos del Pb) también forman complejos con materiales húmicos (Schulz-Baldes *et al.*, 1983).

Las fuentes de contaminación de Pb son más variadas y proceden de varios ámbitos.

Gran parte del plomo se obtiene por reciclado de chatarras como las placas de baterías y de las escorias industriales como soldaduras, metal para cojinetes, recubrimientos de cables, etc.

Las áreas urbanas y cercanas a carreteras han sido la principal fuente de Pb antropogénica. Como resultado, la aportación primaria de plomo al medioambiente se hizo a través de la combustión de gasolinas de automóviles. Según Clark (1992), las actividades humanas liberan mucho más Pb a la atmósfera (449.000 toneladas/año) que las fuentes naturales (19.000 toneladas/año). Prueba de ello, es que las concentraciones de Pb están mucho más elevadas en el suelo y organismos cercanos a carreteras donde la densidad de tráfico es alta. El Pb medido es inorgánico y deriva casi exclusivamente de compuestos alquílicos de Pb añadidos a los carburantes de automóviles (WHO, 1989).

Las emisiones o descargas de industrias que utilizan Pb en su actividad constituyen una fuente de contaminación de los alrededores. El problema surge porque cuando vierten a medios acuáticos, esta contaminación iniciará un recorrido a más larga distancia.

Otra fuente importante de Pb, creciente a lo largo de estas últimas décadas, son los perdigones de cartuchos de munición. El efecto y la toxicidad se conocen muy bien en aves, pero pocos estudios se han realizado sobre la contaminación de Pb en peces consecuencia de estos perdigones en el medio acuático.

Existe evidencia de que todo el Pb metálico de las plomadas de pesca y perdigones de caza se transforma en especies particuladas y moleculares de Pb que se dispersan por el medioambiente. Cuando el Pb, en forma de perdigones o plomadas, se expone al aire o agua, se produce óxido de Pb, carbonatos de Pb y otros compuestos. Scheuhammer y Norris (1996) analizaron los productos de la corrosión de perdigones y demostraron que se producía cerusita ( $PbCO_3$ ), hidrocerusita ( $Pb(CO_3)_2(OH)_2$ ) y algo de anglesita ( $PbSO_4$ ).

La contaminación del agua por plomo no se origina directamente por el plomo sino por sus sales solubles en agua que son generadas por las fábricas de pinturas, de acumuladores, por alfarerías con esmaltado, en fototermografía, en pirotécnia, en la coloración a vidrios o por industrias químicas productoras de tetraetilo de plomo (se usa como antidetonante en gasolinas) y por algunas actividades mineras, etc.

Las dos principales vías de acceso de los compuestos de plomo al organismo son el tracto gastrointestinal y los pulmones. Cerca del 10% del plomo ingerido es excretado en la orina y en menor cantidad en el sudor, en el pelo y en las uñas. El 90% del plomo que se encuentra en el cuerpo humano se deposita en el esqueleto óseo y es relativamente inerte, y el que pasa a través del torrente sanguíneo puede depositarse en los tejidos.

Los signos más comunes de intoxicación por plomo son los gastrointestinales y sus síntomas comprenden anorexia, náusea, vómito, diarrea y constipación, seguida de cólicos. El plomo puede afectar la síntesis de la hemoglobina y el tiempo de vida media de los glóbulos rojos, así como, al sistema nervioso central y periférico. La contaminación por el plomo en los riñones produce cambios en las mitocondrias e inflamación de las

células del epitelio del túbulo proximal y alteraciones funcionales que provocan aminoaciduria, glucosuria e hiperfosfaturia (síndrome de Fanconi).

Todos los compuestos de plomo son tóxicos en diferente grado, dependiendo de su naturaleza química y grado de solubilidad de cada compuesto, los más tóxicos son los compuestos orgánicos. En el hombre provoca saturnismo, enfermedad que engloba trastornos nerviosos, digestivos y renales.

Desde hace mucho tiempo se sabe que el plomo es venenoso, tiene efectos tóxicos para las plantas, el plancton y demás organismos acuáticos. Los compuestos de plomo en los peces les originan la formación de una película coagulante y les provoca alteraciones hematológicas.

El **mercurio** (azogue) es el único metal líquido en condiciones ambientales. El mercurio líquido no es venenoso pero sus vapores y sus compuestos son muy tóxicos, por lo que en la Edad Media se utilizaban como agentes de asesinato y de suicidio. Como el mercurio y sus compuestos son casi insolubles en agua no fueron considerados, durante mucho tiempo, como contaminantes y mucho menos como contaminantes potenciales.

En 1967 el reporte del envenenamiento de 111 personas y la muerte de otras 45 en la Bahía de Minamoto, en la región costera de Japón, hizo que se pusiera atención a los compuestos de mercurio. Los pescadores, sus familias y sus gatos fueron afectados por una misteriosa enfermedad que les debilitaba los músculos, les afectaba la visión, les producía retraso mental y en ocasiones parálisis y hasta la muerte. Encontraron que las aguas que recibía de las industrias (como la que fabricaba el cloruro de polivinilo, PVC) la Bahía, contenía compuestos de mercurio como el metilmercurio,  $H_3C-Hg-CH_3$ , que también era usado en pesticidas y fungicidas. Encontraron concentraciones de hasta 2000 ppm de mercurio en los sedimentos y de 1.6 a 3.6 ppb en el agua. Posteriormente, los investigadores encontraron que el mercurio y algunos compuestos inorgánicos de mercurio pueden ser metilados (formar metilmercurio) por bacterias anaerobias en el lodo del fondo de los lagos y también por los peces y los mamíferos.

Los desechos que contienen mercurio o sus derivados que se han ido acumulando en los fondos fangosos de los lagos constituyen fuentes potenciales de contaminación y por procesos bioquímicos pueden incorporarse a las diversas cadenas alimenticias. Además los compuestos de mercurio son del tipo de sustancias acumulables en los organismos y pueden llegar a alcanzar concentraciones lo suficientemente altas para ser tóxicos.

La contaminación del agua por mercurio es producido por industrias químicas que producen cloro, fábricas de fungicidas y de pinturas contra hongos, de plásticos, por minas de cinabrio (sulfuro de mercurio,  $HgS$ ), en la extracción de oro y de plata por el método de amalgamación y por las refinerías del petróleo. Se considera que la mitad del mercurio extraído es arrojado al medio ambiente, una parte en forma de vapor a la atmósfera y otra en los desechos industriales al suelo y al agua. Por ejemplo, en la electrólisis del cloruro de sodio en solución se utiliza el mercurio como electrodo y cuando en la sal muera (solución concentrada de cloruro de sodio) disminuye su concentración, es desechada a las alcantarillas. Estos desechos contienen mercurio y siguen el curso del

agua hasta llegar a los lagos, ríos y hasta el mar, donde pueden incorporarse a las diferentes cadenas alimenticias, reaccionar y transformarse en metilmercurio. Luego el hidróxido de sodio obtenido que está contaminado por mercurio se utiliza como materia prima de otros procesos.

En la agricultura se usan fungicidas de compuestos organomercuriales como el 2-cloro-4-hidroxifenilmercurio y el acetato de 2-(fenil-mercuriamino) etanol, y fungicidas de follaje como el acetato de 2-(fenil-mercuriamino)etanol.

El cloruro mercúrico,  $\text{HgCl}_2$ , es muy tóxico y peligroso por su gran solubilidad en agua (71.5 g/L a 25°C). El fulminato mercúrico,  $\text{Hg}(\text{ONC}_2)_2$ , es soluble en agua, en solventes orgánicos y se usa como detonador de explosivos. El acetato fenilmercúrico se usa en pinturas látex como conservador y como contra el ataque de hongos o el enmohecimiento.

Los compuestos de mercurio son muy tóxicos a ciertas concentraciones, en los peces ocasionan alteraciones en los epitelios branquiales y dérmicos y hasta la muerte. En el hombre los compuestos de mercurio provocan alteraciones en la mucosa intestinal e inhibición de ciertas enzimas; y en las mujeres embarazadas puede provocar trastornos teratogénicos graves, también se considera que puede producir alteraciones genéticas, lesiones renales y del sistema nervioso central y hasta la muerte.

Los compuestos alquilmercúricos son muy tóxicos y de larga duración, son de efectos destructivos del cerebro y del sistema nervioso central, donde tienden a acumularse. Se usaban como desinfectantes de semillas pero se prohibió el uso de todos los derivados del mercurio en la agricultura. Sólo se permite el uso del cloruro mercúrico y mercurioso para controlar hongos en el pasto.

El **chromo** (Cr) es un elemento natural ubicuo, que se encuentra en rocas, plantas, suelos, animales y en los humos y gases volcánicos. Es un elemento de transición, por lo que puede funcionar con distintas valencias; las más comunes son las derivadas del cromo trivalente, o cromo (III), y las del cromo hexavalente, o cromo (VI). El cromo (III) es un nutriente esencial para los seres humanos, en los que promueve la acción de la insulina. Usualmente, el cromo metálico, o cromo (0), y los derivados del cromo (VI), son de origen antropogénico. (ATSDR 1990)

Por su alta reactividad, el cromo metálico no se encuentra libre en la naturaleza. Es muy resistente al calor y altamente resistente a la oxidación, inclusive a altas temperaturas; fácilmente se recubre con una delgada capa de óxido que lo protege de un ataque químico posterior. Por esta propiedad, aunada a su color blanco plateado, se debe que se emplee para recubrir objetos de diferentes metales con el fin de protegerlos de la corrosión, lo que se conoce como 'cromado'.

Por su estabilidad, en el ambiente usualmente predominan los derivados del cromo (III). El más importante de ellos es el óxido crómico,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , que es resistente a los ácidos y de alto punto de fusión. Se emplea como pigmento con el nombre de "verde de cromo". Los derivados de cromo (III) pueden formar iones complejos, estables y coloridos.



En general, los efluentes industriales que contienen cromo se incorporan a las aguas y, eventualmente, llegan al océano, su forma química depende de la presencia de materia orgánica en las aguas pues, si en ella la hay en grandes cantidades, el cromo (VI) se reducirá a cromo (III), el cual se podrá absorber en las partículas suspendidas, en los sedimentos o formar complejos insolubles, los que pueden permanecer en suspensión cerca del sitio de entrada al ambiente, ser transportados al océano, o bien, precipitar y ser incorporados a los sedimentos. La proporción de cromo (III) en éstos aumenta con su profundidad.

Los efluentes de industrias que utilizan cromo, como las de cromado, curtido, protección de maderas, y textiles también pueden aportar a las aguas superficiales cantidades relativamente elevadas de cromo. Cuando los desechos sólidos de las industrias que procesan o emplean cromo no se tratan adecuadamente, pueden ser fuentes importantes de contaminación para los mantos freáticos, en los que el cromo puede permanecer por largo tiempo. En teoría, el cromo (VI) puede persistir en este estado en las aguas con bajo contenido de materia orgánica, mientras que, al pH natural de las aguas, el cromo (III) formará compuestos insolubles, a menos que se formen complejos. Se desconoce la proporción relativa de cromo (III) y cromo (VI) en las aguas.

La biodisponibilidad del Cr no ha sido completamente aclarada. Se conoce, sin embargo, que en ella influyen la solubilidad de los compuestos y la capacidad de los derivados de cromo (III) para formar complejos, los que pueden ser más o menos solubles que el compuesto original. Aunque la absorción de Cr(VI) sea más rápida, una vez en los organismos, el cromo se reduce a la forma trivalente que predomina por ser la más estable. (IPCS 1988)

En el aire no contaminado el cromo se encuentra normalmente en concentraciones entre 0,01-0,02 mg/m<sup>3</sup>, niveles que no causan daños a la salud. Sin embargo, la contaminación industrial puede elevar la concentración de cromo en el aire que superan los 0.4 mg/m<sup>3</sup> (Commission of the European Communities, 1979).

En el suelo el cromo se puede encontrar en concentraciones de hasta 250 mg/kg. En general, se encuentran concentraciones medias de 125 mg/kg, pero la contaminación por el uso de fertilizantes puede elevarlas (Galvao & Corey op. cit.).

## **2. Contaminación del agua por petróleo**

Los hidrocarburos son un tipo de contaminantes que afectan a la calidad del agua de manera importante. Los derrames de petróleo, cada día son más frecuentes en los océanos, dejan estelas de contaminación de efectos a muy largo plazo. La formación de una película impermeable sobre el agua en las zonas de derrame afecta rápida y directamente a las aves y a los mamíferos acuáticos ya que obstruye el intercambio gaseoso y desvía los rayos luminosos que aprovecha el fitoplancton para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis.

La contaminación por petróleo crudo o por petróleo refinado (combustibles) y otros productos obtenidos por destilación fraccionada y procesamiento químico del petróleo crudo) es generada accidental o deliberadamente desde diferentes fuentes. Algunos investigadores consideran que la contaminación por petróleo proviene de los accidentes de los buque-tanques y de las fugas en los equipos de perforación marina, sin embargo, otros consideran que es cuestión de propaganda, ya que casi el 50% del petróleo que llega a los mares y los océanos proviene de tierra firme, del que es arrojado al suelo por las personas en las ciudades y en zonas industriales que luego son arrastrados por las corrientes fluviales hasta terminar en los océanos.

Una gran proporción de la contaminación del mar se debe a los desechos de millones de barcos que recorren diariamente los mares. Es probable que el desecho más importante de todos ellos sea el petróleo. En 1970, la expedición Ra a través del océano Atlántico reportó que de los 57 días que duró el recorrido, en 43 de ellos el mar estaba visiblemente contaminado con trozos de petróleo solidificado, aceite y otros desechos.

Se calcula que alrededor de 1500 millones de toneladas al año son transportadas a través de los mares y que en el proceso de carga y descarga se pierde el 0.1% de ese petróleo. Además es práctica común que los tanques cisterna utilicen como lastre agua de mar y la regresen contaminada con petróleo. Otros buques-tanques bombean el petróleo de desecho al mar en forma de desperdicio. Se calcula que por estas dos formas se arrojan al mar 3.5 millones de toneladas de petróleo. Otra forma de contaminación por petróleo del mar proviene de la perforación de pozos de gas y petróleo en las aguas costeras y de las fugas de las tuberías subacuáticas.

Algunos investigadores consideran que los accidentes de los buques-tanques son responsables solamente del 10 al 15 % del ingreso anual de petróleo al océano, pero los derrames concentrados pueden causar grandes impactos ecológicos y económicos sobre las áreas costeras.

En 1983 ocurrió el mayor accidente en un buque-tanque, el Castillo de Beliver se incendió y derramó cerca de 300 millones de litros de petróleo en el océano, frente a las costas de Ciudad del Cabo, en Sudáfrica.

En marzo de 1989, el buque-tanque Exxon Valdez derramó a las aguas del golfo del Príncipe Guillermo, en Alaska, 41 millones de litros de petróleo crudo. Pero este tipo de tragedias son mucho más comunes de lo que nos imaginamos, pues cada semana ocurren derrames de petróleo o de otras sustancias contaminantes. Por ejemplo, durante los primeros diez meses de 1990, ocurrieron derrames de petróleo crudo por más de 128 millones de litros, lo cual fue superior a lo vertido al mar en la década anterior, que fue de 105 millones de litros.

Se encontró que existe un tipo de bacterias capaces de elaborar una goma conocida como "goma de xantano", que es un polisacárido muy viscoso que funciona como un eficaz espesante. Por lo que se utiliza mezclado con el agua para extraer el petróleo de los pozos de una manera más fácil y económica. También se utiliza en el proceso de recuperación del petróleo.

### **Los efectos de la contaminación por petróleo**

Los efectos del petróleo sobre los ecosistemas marinos dependen de factores como: tipo de petróleo (crudo o refinado), cantidad, distancia del sitio contaminado con la playa,

época del año, condiciones atmosféricas, temperatura media del agua y corrientes oceánicas.

Los hidrocarburos forman con el agua una capa impermeable que obstaculiza el paso de la luz solar que utiliza el fitoplancton para realizar el proceso de la fotosíntesis, interfiere el intercambio gaseoso, cubren la piel y las branquias de los animales acuáticos provocándoles la muerte por asfixia.

El petróleo derramado en el mar se evapora o es degradado en un proceso muy lento por bacterias. Los hidrocarburos orgánicos volátiles matan inmediatamente a varios tipos de organismos acuáticos, especialmente en etapa larvaria. En las aguas calientes se evapora a la atmósfera la mayor parte de este tipo de hidrocarburos en uno o dos días, y en aguas frías este proceso puede tardar hasta una semana.

Otro tipo de sustancias químicas permanecen en el agua superficial y forman burbujas de alquitrán o musgo flotante. Este petróleo, también, cubre las plumas de las aves, especialmente de las que se zambullen, y la piel de mamíferos marinos como las focas y nutrias de mar. Esta capa de petróleo destruye el aislamiento térmico natural de los animales y también afecta su capacidad para flotar, por lo cual mueren de frío o porque se hunden y ahogan.

Las capas de petróleo en el océano son degradadas por bacterias pero es un proceso lento en aguas calientes y mucho más lento en aguas frías. Los componentes pesados del petróleo se hunden hasta el fondo del mar y pueden matar organismos que habitan en las profundidades como los cangrejos, ostras, mejillones y almejas. Además los que quedan vivos no son adecuados para su consumo.

La mayoría de los ecosistemas marinos expuestos a grandes cantidades de petróleo crudo requieren unos 3 años para su recuperación. Sin embargo, los ecosistemas marinos contaminados por petróleo refinado, en especial en los estuarios, requieren de 10 años o más para su recuperación. El derrame de petróleo causado por la embarcación Barge Florida en Cabo Cod, en 1969, todavía 20 años después se encontraron trazas de petróleo en los sedimentos marinos y en tejidos de algunos animales marinos. Los efectos de los derrames de petróleo en aguas frías causan daños durante más tiempo como se mostró con la Sonda del Príncipe Guillermo, en aguas antárticas de Alaska.

### **3. Distribución y niveles de metales pesados en agua**

La concentración de metales en agua superficial contribuye a la acumulación de metales en branquias y riñón de peces. Las branquias se exponen a metales a través del agua ya que están constantemente en contacto directo. Los riñones están expuestos a los metales del agua porque la sangre fluye desde las branquias a la arteria carótida, que aporta sangre al riñón (Farell, 1993).

En general, el orden de acumulación de metales pesados en la red trófica es como sigue: capa biológica=sedimentos>invertebrados>peces (Deacon y Driver, 1999).

Aunque las concentraciones absolutas de metales están más elevadas en la capa biológica y sedimentos, se ha cuestionado que los metales se biomagnifiquen en peces. Los datos de un estudio realizado por Farag *et al.* (1998) demuestran que los metales

son biodisponibles y que aunque no se biomagnifiquen a través de niveles tróficos, sí se bioacumulan a concentraciones que causen efectos fisiológicos en peces.

El muestreo de sedimentos de una cuenca se puede usar para definir el enriquecimiento de metales a causa de cualquier contaminación exógena - mineras, industriales-. Estos metales pesados son ingeridos con las partículas de materia orgánica por los organismos bénticos y luego se pueden acumular y mover a lo largo de la cadena trófica, por lo que la concentración detectada en los sedimentos se puede utilizar para evaluar su toxicidad potencial para la vida que lo circunda (Deacon y Driver, 1999).

La concentración de metales asociada a los sedimentos está en un orden de 3 veces mayor que los asociados a la fase acuosa, en parte a causa del pequeño tamaño de partícula de los sedimentos que actúa como agente de transporte de metales.

Los elementos traza, al distribuirse en el medio acuático tienden a asociarse con el grano fino de los sedimentos, por lo que la concentración de metales en los sedimentos de una cuenca generalmente se incrementa a medida que el tamaño de partícula disminuye.

En el agua los niveles naturales de **chromo** son bajos alcanzando en los ríos concentraciones de cromo que varían entre 0.1 a 5 mg/L. En el océano, las concentraciones son inferiores a 5 mg/L. Las actividades y efluentes industriales son los principales contaminantes de los cursos de agua llegando a elevar las concentraciones de cromo por sobre 25 mg/L (Bruhn et al., 1997, Tapia, 1997).

Si bien el cromo existe en el medio ambiente en diversos estados de oxidación, sólo las formas trivalentes (III) y hexavalentes (VI) se consideran de importancia biológica. En los medios acuáticos, el cromo (VI) se encuentra principalmente en forma soluble, que puede ser lo suficientemente estable como para ser transportada en el medio. Sin embargo, el cromo (VI) finalmente se convierte en cromo (III) mediante la reducción de especies tales como las sustancias orgánicas, el ácido sulfhídrico, el azufre, el sulfuro de hierro, el amonio y el nitrito (USPHS 1997, Kimbrough et al. 1999). Por lo general, esa forma trivalente no migra de manera significativa en los sistemas naturales sino que se precipita rápidamente y se adsorbe en partículas en suspensión y sedimentos del fondo. Sin embargo, los cambios en las propiedades físicas y químicas del medio acuático pueden alterar el equilibrio entre el cromo (III) y el cromo (VI) (Richard and Bourg 1991). Se ha comprobado que el cromo (III) y el cromo (VI) se acumulan en muchas especies acuáticas, especialmente en peces que se alimentan del fondo, como el bagre (*Ictalurus nebulosus*), y en los bivalvos, como la ostra (*Crassostrea virginica*), el mejillón azul (*Mytilus edulis*) y la almeja de caparazón blando (*Mya arenaria*) (Kimbrough et al. 1999).

Deacon y Driver (1999) realizaron un estudio de los niveles de **Cu, Zn, Pb y Cd** en los sedimentos y su distribución, llegando a la conclusión de que a medida que disminuye el tamaño de la partícula en los sedimentos, la concentración de estos metales aumenta. De esta forma, todos los metales se encontraron en elevadas concentraciones en la fracción de sedimento de tamaño de partícula <63 µm.

Gran parte del Cd que entra en la superficie acuática de efluentes industriales se absorbe rápidamente a las partículas de materia y se aposenta en sedimentos.

Todos los estudios muestran que la concentración de Cd en sedimentos es, al menos, el doble que en la superficie de agua de contacto con sedimentos (Callahan *et al.*, 1979). Según estos autores, en los sedimentos, bajo condiciones anaeróbicas y en presencia de sulfuros, se puede formar CdS bastante insoluble.

Sólo cuando se remueven grandes cantidades de sedimentos el CdS se puede transformar y liberar Cd al contacto con el ambiente aeróbico.

El Pb que penetra en los sistemas fluviales se retira pronto del agua superficial hacia los sedimentos, absorbiéndose a la materia orgánica y arcillas, precipitándose más tarde como sales insolubles (carbonato, sulfato y sulfuro de Pb). En los sedimentos reacciona con iones OH-, aluminio y óxido de magnesio. Se acumula básicamente en las capas más superficiales (Schulz *et al.*, 1983).

El análisis de las concentraciones totales de metales sólo nos da información del enriquecimiento de metales en los sedimentos, pero no nos da una información directa sobre los efectos biológicos. Esto es debido al hecho de que las diferentes formas químicas de un metal en los sedimentos determinarán su comportamiento en el medioambiente. Por el contrario, la extracción secuencial nos aporta información sobre la forma en que están esos metales pesados en los sedimentos y así deducir información sobre movilidad, ocurrencia y biodisponibilidad (Zhou *et al.*, 1998).

Zhou *et al.* (1998) analizaron sedimentos de 3 ríos de Hong Kong usando extracciones secuenciales para fraccionar los metales contenidos en los sedimentos en 6 grupos:

- Fracción de metales soluble en agua
- Fracción de metales intercambiable
- Fracción de metales en carbonatos
- Fracción de metales unidos a óxidos de Fe-Mn
- Fracción de metales en materia orgánica
- Fracciones de metales residuales

Los niveles en la fracción residual se pueden considerar como valores base de metales pesados en los sedimentos. Las fracciones soluble en agua, intercambiable y carbonato se consideran como medianamente biodisponibles para el medioambiente.

El Zn se concentró principalmente en la fracción residual (23-45%), óxido de Fe-Mn (24-38%) y carbonato (21-36%). El carbonato de calcio forma complejos con el Zn como dobles sales  $\text{CaCO}_3\text{-ZnCO}_3$  en los sedimentos. Este fenómeno de coprecipitación con el carbonato puede ser un mecanismo importante de eliminación del Zn cuando la fracción de materia orgánica y de óxidos de Fe, es menos abundante en los sistemas acuáticos.

El Cd se encontró principalmente en la fracción carbonato (34-61%) y en la fracción intercambiable (22-29%) y no se pudo encontrar en las fracciones de óxido de Fe-Mn ni en la fracción orgánica.

El Pb se concentró principalmente en la fracción residual (62-87%), mientras que la fracción óxido de Fe-Mn llevó entre el 8-22% del Pb total. Al igual que el Zn, el Pb forma complejos estables con el óxido de Fe-Mn haciéndose menos biodisponible.

En todos los sedimentos estudiados, sólo el Cu se observó en la fase soluble en agua. El mayor porcentaje (55-70%) estaba asociado con la fracción orgánica. Como media, el porcentaje de Cu asociado con las diferentes fracciones era en este orden: orgánica>residual>carbonato> Óxido Fe-Mn>intercambiable>soluble en agua.

Teóricamente, los iones libres de metales son la forma más biodisponible de los metales pesados aunque la concentración de los iones libres varía con el pH y las sustancias orgánicas. Asumiendo que la biodisponibilidad se relaciona con la solubilidad, las seis fracciones en orden decreciente de solubilidad serían: fracción soluble en agua>intercambiable>carbonato> óxido Fe-Mn>orgánica>residual, por lo que la disponibilidad de los metales decrece en ese mismo orden.

Tariq *et al.* (1996) determinaron el contenido de metales pesados en peces, sedimentos y agua del río Indus (Paquistán). De los datos observados en los sedimentos y agua se reflejó una posible correlación entre el contenido de metales pesados de peces y de sedimentos. De esta forma, los niveles en peces y en los sedimentos de la misma zona se elevaron o disminuyeron.

Miller *et al.* (1992) estudiaron la relación que existía entre el Cu y Zn del agua con los sedimentos, invertebrados bénticos y los tejidos de una especie de carpa chupadora (*Catostomus commersoni*) en zonas contaminadas. Las concentraciones de Cu en invertebrados se correlacionaron con las de agua ( $r=0,857$ ) pero no con el sedimento ( $r=0,595$ ), sugiriendo así que el agua juega un importante papel en la acumulación de metales en invertebrados. Por el contrario, las concentraciones de Zn en invertebrados se correlacionaron con sedimentos ( $r=0,786$ ), pero no con las concentraciones en agua ( $r=0,548$ ), sugiriendo por tanto que los sedimentos son la principal fuente de contaminación de Zn para invertebrados. Para ambos metales, la concentración en agua fue la que mejor se correlacionó con la contaminación en tejido de peces, mientras que pobremente lo hizo la concentración en sedimentos o invertebrados.

Gümgüm *et al.* (1994) realizaron un estudio sobre metales pesados (Zn, Pb y Cu) en sedimentos, agua y peces del río Tigris en Turquía. Según los resultados, no existe una clara relación entre la cantidad de metales pesados hallada en sedimentos con la cantidad hallada en agua o peces (tal vez para el Cu), de tal forma que no se puede establecer correlaciones ni positivas ni negativas, y por ende, no se puede predecir el comportamiento de los metales pesados a partir de su determinación en sedimentos.

Livonen *et al.* (1992) no encontraron correlación alguna entre los niveles de metales pesados hallados en sedimentos y en agua de varios lagos de Finlandia. Zhou *et al.* (1998) dividieron los sedimentos de agua dulce en varias fracciones, como antes se ha comentado. Estos autores estudiaron las relaciones de los metales en cada fracción (excepto la fracción soluble en agua) de sedimento con los metales en los diferentes órganos del pez usando una matriz de correlación de Pearson. La acumulación del Cu

en hígado se relacionó estrechamente con la concentración de este metal en cada fracción de sedimento. La concentración de Zn en piel se relacionó con la fracción carbonato, óxido de Fe-Mn, orgánica y residual. El contenido de Pb en branquia, hígado, piel y músculo se relacionó con la fracción intercambiable de los sedimentos. En lo que se refiere al Cd, no hubo correlaciones significativas entre el contenido en los diferentes órganos del pez y los niveles hallados en los sedimentos.

Pardo *et al.* (1989) analizaron Zn, Cd, Pb y Cu en aguas de diferentes ríos de la provincia de Valladolid, con el fin de monitorizar la carga de metales pesados y, más importante aún, la forma en la que estos metales estaban en el agua.

El Zn se distribuyó entre el estado disuelto y unido a la materia suspendida. En el estado disuelto, la cantidad principal corresponde a la categoría de lábil y especie intercambiable con  $H^+$ . Este comportamiento está de acuerdo con la tendencia usual del Zn, ya que tiene poca afinidad por la materia orgánica disuelta, principal agente que forma especies inertes en las aguas fluviales. El Cd apareció mayormente en estado de disolución en especie lábil, pero no siguió un patrón definido en cada río.

El Pb se encontró principalmente unido a la materia suspendida.

El Cu siguió una tendencia parecida al Pb, ya que se presentó en la materia suspendida y unido a la materia orgánica disuelta como especie fuertemente inerte.

En general, los estudios coinciden en que el Cd se encuentra siempre en forma de  $Cd^{2+}$  en agua. Por consiguiente, el potencial redox tiene poco efecto en la valencia del Cd. En aguas naturales, el Cd puede ser encontrado de varias formas químicas, como  $Cd^{2+}$  o sus hidratos ( $Cd(OH)^+$ ), como complejos metálicos inorgánicos ( $Cd(HCO_3)^+$ ) y complejos metálicos orgánicos. Como otros metales, la dureza y el pH tienen efectos significativos y se sabe que hasta un pH de 9, casi todo el Cd soluble está en forma de catión divalente. Por encima de pH 9, el  $Cd(OH)_2$  precipita (Callahan *et al.*, 1979).

En un estudio realizado por la EPA estadounidense, no se vio diferencia en la especiación del Pb entre las muestras filtradas y no filtradas, indicando que los complejos existen en la fase disuelta (U.S. EPA, 1977).

En cuanto a los factores de bioconcentración (BCF), para el Zn se han descrito unos BCF de 4.000 en plantas acuáticas, 40.000 para invertebrados acuáticos, 30.000 para larvas de quironómidos y 1.000 para peces de agua dulce (Camusso *et al.*, 1995). Los BCF del Cd recogido en la bibliografía son, para las plantas acuáticas de 1.000, invertebrados acuáticos de 4.000 y en peces, generalmente no supera el valor de 100, aunque en algún caso se haya llegado hasta 3.000 (Callahan *et al.*, 1979). Wren *et al.* (1995) determinaron el BCF para la trucha arco iris expuesta a Cd a través de la comida, siendo menor a 1 cuando se midió la cantidad de Cd en todo el pez entero.

Los factores de bioconcentración para 4 especies de invertebrados de agua dulce expuestos a Pb variaron entre 499 a 1.700. Los peces no parece que acumulen Pb tan

fácilmente como las especies de invertebrados de los que se alimentan, como lo indicaron los BCFs de 42 y 45 para la trucha arco iris y para la perca de agallas azules, respectivamente. Sin embargo, las especies de agua salada acumulan mucho más Pb que las especies dulceacuícolas. Por ejemplo, los BCFs para las ostras y almejas fueron de 1.400 y de 2.570 (Kayser y Sterling, 1982). El BCF del Cu en peces obtenido en estudios de campo fue entre 10-100, indicando un bajo potencial para la bioconcentración. El BCF es mucho mayor para moluscos, especialmente en ostras, que pueden alcanzar valores de 30.000 (Perwack *et al.*, 1980).

El metil mercurio es producido por las bacterias metanogénicas. Cuando el mercurio es metilado por la ingestión de los microorganismos, un átomo de carbono es adicionado al átomo de mercurio, este átomo adicional cambia las propiedades del mercurio consiguiendo ser fácilmente acumulado en peces. Una vez liberado por los microorganismos, el metilmercurio rápidamente se difunde y es vinculado a las proteínas en la biota acuática, de aquí éste marcha hacia la cima de la cadena alimenticia en un proceso llamado Biomagnificación. Los peces más pequeños adsorben el metilmercurio del agua que pasa por sus agallas y de la flora y fauna contaminada con la que se alimenta. Luego estos peces son comidos por otros peces más grandes, razón por la cual se encuentran concentraciones más altas en peces a lo más alto de la cadena alimenticia acuática. Paralelamente y debido en parte a la biomagnificación, ocurre la Bioacumulación, proceso por el cual los organismos vivos, incluyendo a los seres humanos, absorben contaminantes más rápidamente de lo que sus cuerpos pueden eliminar, por lo que el contaminante se acumula todo el tiempo.

*LONDRES (Reuters, mayo de 2002) -- La Agencia de Normas Alimentarias, advirtió que las mujeres embarazadas, las que quieren embarazarse y los niños menores de 16 años no deben comer pescados como el pez espada, el tiburón y el pez vela debido a sus altas concentraciones de mercurio.*

*Según estudios de la Universidad de Bristol, el pez espada, el pez vela y el tiburón tienen concentraciones promedio de mercurio de entre 1 y 1,52 miligramos por kilogramo (2,2 libras) de pescado.*

#### **4. Niveles de metales en plantas y algas acuáticas**

Existen algunos estudios que hacen referencia a la acumulación de metales pesados por plantas acuáticas. Estos estudios tienen importancia porque muchas de ellas son consumidas por invertebrados acuáticos y después éstos ingeridos por peces, o las plantas acuáticas pueden ser directamente ingeridas por los peces. De esta forma interesa saber cuál será más o menos su patrón de acumulación para poder establecer correlaciones entre los niveles hallados en plantas y sus consumidores.

La incorporación de metales por plantas puede ser por agua, suelo, aire o una combinación de los tres, dependiendo del tipo de planta que sea (con raíces, sumergida o no). Lo más habitual es que los metales entren en la planta en su forma iónica. En las plantas acuáticas el proceso consiste en 2 pasos; absorción por las raíces y translocación a los tallos y hojas. La concentración relativa de los metales en las raíces y



en las partes más altas depende de la velocidad de estos 2 procesos. A medida que la absorción por raíces es mayor que la velocidad en la translocación hacia tallos y hojas, la concentración de metales será mayor en las raíces que en las demás zonas de la planta.

Zaranyka y Ndapwadza (1995) realizaron un estudio de acumulación de diversos metales pesados en una planta acuática (*Eichhornia crassipes*) y en agua en dos ríos de Zimbabwe. En dicho estudio, los niveles de metales pesados eran superiores en las plantas que en el agua del río Mukuvisi y los BCFs variaron de unos metales a otros en este orden: Zn, Pb, Cu, Cd.

Manny *et al.* (1991) estudiaron la contaminación metálica en macrofitos acuáticos (alrededor de 2.796 Kg de metales combinados se transportan por los macrofitos al lago Erie) y lo proponen para monitorizar la carga contaminante de los ríos. Estos macrofitos, cuya especie, *Vallisneria americana* era la más importante, son arrastrados por los ríos y con ellos adheridas cargas importantes de metales pesados que sirven de comida a invertebrados acuáticos y peces.

En este estudio demostraron que la concentración de metales pesados era significativamente mayor en macrofitos que en las aguas de los ríos y que se encontraron niveles parecidos en macrofitos y sedimentos.

## 5. Niveles de metales pesados en invertebrados acuáticos

Los metales presentes en los tejidos de invertebrados nos documentan una ruta a través de la cual los metales se mueven hacia arriba en la cadena trófica. Tanto es así, que los invertebrados pueden influir en las concentraciones de los metales acumulados en los macroinvertebrados bénticos y por tanto en peces.

La concentración de metales difiere entre los grupos de macroinvertebrados bénticos, ya que todos no se alimentan de lo mismo. Hay macroinvertebrados que se alimentan filtrando sedimentos, ingiriéndolos o como herbívoros, alimentándose de pequeñas partículas de vegetal. De esta forma, uno debe ser cuidadoso en realizar comparaciones específicas de concentración de metales entre muestras de invertebrados combinados. Kiffney y Clements (1993) comprobaron que los invertebrados que se alimentaban de la biocapa, acumularon mayores concentraciones de metales que otros grupos que se alimentaban de otros estratos.

En conclusión, la concentración de metales en macroinvertebrados bénticos se puede comparar entre zonas diferentes siempre y cuando se obtengan muestras parecidas en talla y hábitos alimenticios.

## 6. Distribución y niveles de metales pesados en peces

Los metales pesados pueden entrar en los peces por 3 posibles vías: a través de las branquias, considerada como la vía más directa e importante, a través de la ingestión de comida, también importante, y por último y con una importancia menor, a través de la superficie corporal (Amundsen *et al.*, 1997).

Los diferentes metales pesados tienen órganos más afines que otros a la hora de acumularse y la mayoría de los autores coinciden en resultados parecidos de patrones de acumulación.

El Zn se acumula principalmente en branquias si la vía de absorción es acuática, también se acumula en hígado, menos en riñón y poco en músculo.

Después de exponer truchas arcoiris al Zn durante 30 días en agua de río, se concluyó que el Zn se acumuló en branquias, hígado, riñón, hueso opercular y muy poco en músculo (Camusso *et al.*, 1995). También se han visto elevadas concentraciones de Zn en huesos, ya que este metal está involucrado en su formación. En el tejido esquelético, la deposición de Zn se hace en la matriz de fosfato cálcico insoluble por lo que no es fácilmente movilizado, lo que contribuye al reforzamiento de la utilidad de medir Zn en huesos como indicador de contaminación a largo plazo.

Incluso dentro de cada órgano la distribución de los metales no es por igual en la célula. Según Shen *et al.* (1998), el Zn se encuentra más asociado con la fracción citosólica de la célula (ultrasobrenadante de 105.000g: 61-62%), mientras que el Cu y el Cd están principalmente asociados al precipitado resultado de centrifugar a 15.000 g, que contiene núcleos y tejido conectivo (49-61%).

El Cd elige como órgano de concentración mayor el riñón, pero también en menor cantidad en hígado, branquia y como último el músculo. Los organismos marinos generalmente contienen residuos más elevados de Cd que sus congéneres de agua dulce u organismos terrestres (WHO, 1992).

Los niveles relativos de Cd son mucho mayores en hígado que en todo el pez o músculo. El riñón tiende a acumular más Cd que el hígado (McCracken, 1987).

El Pb se acumula más en hígado, branquias (si la vía de absorción es acuática), menos en riñón y también poco en músculo. La ingestión de Pb por los peces alcanza el equilibrio sólo después de varias semanas de exposición. Cuando el Pb se acumula, mayormente lo hace en branquias, hígado, riñón y huesos. Los huevos de los peces muestran niveles mayores de Pb cuando se incrementa la concentración de la exposición, existiendo indicaciones de que el Pb se presenta en la superficie de los huevos, pero no se acumula en el embrión.

Tras la exposición crónica (21 días) en trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) con dosis subletales (<2,4 mg/L) de Pb, la concentración más elevada de Pb se encontró en hueso opercular, seguido de branquias y riñón, mientras que la acumulación en cerebro no se vio claramente (Hodson *et al.*, 1978).

El Cu se acumula básicamente en hígado, aunque también se detectan niveles en riñón, menos en branquia y poco en músculo. En mamíferos, se ha sugerido que el hígado juega el mayor papel en la protección de exposiciones crónicas a Cu al producir metalotioneínas y al actuar como lugar de almacenamiento. En un estudio realizado por Robinson y Avenant-Oldewage, (1997) en la tilapia (*Tilapia mossambica*) se vio que el

hígado acumuló la mayor cantidad de Cu con respecto a otros órganos, seguido de las branquias, mientras que el músculo tiene pocas propiedades acumulativas. Esta elevada concentración de Cu se atribuye a la unión de éste con las metalotioneínas para formar complejos como mecanismos de detoxificación.

Resultados similares respecto a la ausencia de acumulación en músculo fueron observados por Griffin *et al.* (1997), al exponer peces bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) a concentraciones de 1,7, 2,7 y 3,6 mg/L de sulfato de Cu durante 10 semanas. Parece ser que el músculo posee mecanismos homeostáticos que resisten la tendencia a absorber el exceso de Cu presente en el medio ambiente u otros tejidos.

El Cu hepático se incrementó rápidamente en salmones expuestos a 140 µg/L de Cu, alcanzando 5 veces la concentración del grupo control a las 4 semanas. Salmones expuestos a 70 µg/L de Cu también concentraron de forma significativa más Cu que los animales control (Buckley *et al.*, 1982).

En las branquias, la concentración de Cu fue mucho menor que en hígado pero mayor que en los peces control. Los niveles de Cu en riñón fueron mucho menores que en hígado e incluso los valores encontrados en los peces intoxicados fueron parecidos a los controles, sugiriendo que el riñón no juega un papel importante en la detoxificación del Cu. La única diferencia en la concentración de Cu en plasma entre peces control y expuestos se observó en momentos iniciales de exposición a 140 µg/L de Cu y a las 2 semanas los niveles volvían a valores normales (Buckley *et al.*, 1982).

Shen *et al.* (1998), al determinar las concentraciones de metales en tejidos del pez tilapia (*Tilapia mossambica*), el Cu y el Zn se encontraron en mayor concentración en hígado y branquia respectivamente.

En un estudio realizado sobre las poblaciones naturales del pez raspallón (*Diplodus annularis*) recogidos en el golfo de Gabes (Túnez) se encontró que los niveles mayores de Cd y Cu se hallaron en hígado, mientras que las gónadas poseían mayores concentraciones de Zn, explicables por el hecho de que juega un papel fisiológico esencial en la fertilización y se almacena de reserva en los oocitos femeninos. De esta forma, concluye que las concentraciones de Cd y Cu en el hígado se pueden ser utilizados para biomonitorizar el medio que los circunda (Hamza-Chaffai *et al.*, 1996).

De estos estudios se concluye que el hígado es un órgano de acumulación de metales pesados, el riñón, como órgano filtrador también los retiene, las branquias, directamente expuestas cuando la contaminación es a través del agua, son la primera barrera defensiva y como tal tienen capacidad para retener metales, y por último, el músculo como órgano que no juega un papel esencial en la acumulación de los metales pesados en peces.

Dentro del Programa Nacional de Biomonitorización de Contaminantes, la media encontrada de Zn en varios peces enteros de E.E.U.U. fue de 21,7 µg/g (U.S. DHHS, 1993).

Peces que se alimentan del fondo o sedimentos recogidos de varios puntos de E.E.U.U. tenían una media de concentración de Zn de 36 µg/g (Kidwell *et al.*, 1995).

Otros autores citaron que la media de concentración de Zn estuvo entre 3 y 8 µg/g, con ciertos peces conteniendo hasta 25 µg/g (Allen-Gil *et al.*, 1997). En la trucha marrón (*Salmo trutta*) se detectaron niveles de Zn entre 72-130 µg/g, en la perca flavescens (*Catostomus commersoni*) 61-139 µg/g y en carpas 320-1,321 µg/g recogidas en el Río South Platte (EE.UU.) (Heiny y Tate, 1997).

Peces recogidos en lagos de Alaska contenían concentraciones de Zn de entre 89-170 µg/g (hígado) y 17-35 µg/g (músculo) (Allen-Gil *et al.*, 1997). En el Lago Tanganika (Burundi), los peces recogidos contenían concentraciones de Zn entre 4-30 µg/g (Benemariya *et al.*, 1993). En peces del Río Benue (Nigeria) se detectaron concentraciones de 34-40 µg/g.

Carpas de Australia contenían una media de 16 µg/g de Zn en músculo (Gibbs y Miskiewicz, 1995).

Hernández *et al.* (1992) realizaron un estudio de metales pesados en el área del Mediterráneo Español. Según estos autores, los niveles de Cd que se detectaron en los peces eran elevados (50-500 ng/g peso fresco), probablemente debido a las industrias de cerámica del área cercana. Los niveles de Pb eran generalmente bajos, aunque en alguna situación puntual se elevaran hasta 350 ng/g peso fresco.

Miller *et al.* (1992) no encontraron diferencias entre las concentraciones de Cu y Zn en el hígado, riñón, branquia y huesos (sólo en el caso de Zn) de peces de diferentes lagos. Este estudio sugiere que el hígado y el riñón son mejores órganos indicadores de exposición crónica a Cu y Zn que el músculo.

No es conocido que el Cromo se acumule en los peces, pero altas concentraciones de este metal, debido a la disponibilidad de metales en las aguas superficiales, pueden dañar las agallas de los peces que nadan cerca del punto de vertido.

Todas las formas de mercurio pueden llegar a acumularse, pero el metilmercurio se absorbe y acumula más que otras formas. El mercurio inorgánico también puede ser absorbido pero por lo general en menores cantidades y con menor eficiencia que el metilmercurio. La biomagnificación del mercurio es lo que más incide en los efectos para animales y seres humanos. Al parecer, los peces adhieren con fuerza el metilmercurio; casi el 100% del mercurio que se bioacumula en peces depredadores es metilmercurio. La mayor parte del metilmercurio en tejidos de peces forma enlaces covalentes con grupos sulfhidrilo proteínico, con lo que la vida media de eliminación resulta larga (aproximadamente de dos años). Como consecuencia, se genera un enriquecimiento selectivo de metilmercurio (en comparación con el mercurio inorgánico) cuando se pasa de un nivel trófico al siguiente nivel trófico superior.

En comparación con otros compuestos de mercurio, la eliminación del metilmercurio en peces es muy lenta. En concentraciones ambientales constantes, las concentraciones de mercurio en peces de determinada especie tienden a aumentar con la edad, como consecuencia de la lenta eliminación del metilmercurio y una mayor ingesta debido a los desplazamientos en los niveles tróficos que suele haber a medida que el pez va creciendo (come cada vez más peces, y las presas son más grandes). Por eso, es común que los peces más viejos tengan en sus tejidos concentraciones de mercurio más altas que los peces más jóvenes de la misma especie.

Las concentraciones más bajas de mercurio se encuentran en peces pequeños no depredadores y pueden aumentar varias veces conforme se asciende en la cadena alimentaria. Además de la concentración en alimentos, existen otros factores que inciden en la bioacumulación del mercurio. Son de capital importancia los índices de metilación y desmetilación por efecto de las bacterias metiladoras de mercurio (ej., reductores de sulfato). Cuando todos estos factores se combinan, el índice de metilación neta puede influir mucho en la cantidad de metilmercurio que se produce y que puede ser acumulado y retenido por organismos acuáticos.

*LONDRES (Reuters, mayo de 2002) -- La Agencia de Normas Alimentarias, advirtió que las mujeres embarazadas, las que quieren embarazarse y los niños menores de 16 años no deben comer pescados como el pez espada, el tiburón y el pez vela debido a sus altas concentraciones de mercurio.*

*Según estudios de la Universidad de Bristol, el pez espada, el pez vela y el tiburón tienen concentraciones promedio de mercurio de entre 1 y 1,52 miligramos por kilogramo (2,2 libras) de pescado.*

## **7. Factores que afectan la acumulación de metales pesados en peces**

El medio acuático puede ser dividido en tres compartimentos principales: agua, sedimentos y organismos vivos. Los elementos metálicos naturalmente presentes en el medio ambiente o introducidos artificialmente por las actividades humanas se reparten en estos compartimentos en función de diferentes mecanismos de naturaleza química, física o biológica. Los intercambios entre estos compartimentos estarán influenciados por las variaciones de los factores ecológicos abióticos (características físico-químicas del agua y de los sedimentos) o bióticos (hábitat, régimen alimentario, naturaleza y cantidad de alimento disponible) y por las variaciones del débito fluvial según las estaciones y fluctuaciones climatológicas (Anadon *et al.*, 1984).

### **➤ Vía de entrada de los metales pesados. Ingestión versus absorción de agua**

Las branquias son el principal lugar de ingreso para sustancias disueltas en el agua. Este tejido está expuesto a cantidades mucho mayores de tóxicos que los pulmones de un animal terrestre. En las branquias el agua y la sangre fluyen a contracorriente, el epitelio es muy delgado, sólo dos capas de células, con una gran área de contacto.

Estas son características que facilitan la absorción y son similares a las que se presentan en el epitelio de los órganos de absorción de los animales terrestres.

Hay tóxicos que son principalmente absorbidos de los alimentos y otros del agua respirada. Por ejemplo; el 90% del mercurio acumulado en los peces entra vía la ingesta.

Anteriormente se dijo que el Zn se acumula mucho en branquias, por lo que es lógico pensar en que la ruta de absorción branquial es muy importante. El Cu, que está sobre todo unido a la materia orgánica suspendida en el agua, se acumula mucho más en el hígado y por lo que es más razonable pensar que la vía alimenticia es más enriquecedora de este metal.

En un estudio realizado por Clements y Rees (1997) se observó que los niveles de metales pesados (Zn, Cd y Cu) en hígado y riñón de truchas expuestas a concentraciones superiores no resultaron ser mayores que aquéllas menos expuestas, lo que demuestra una pobre relación entre los niveles de metales pesados en agua y tejidos de peces.

El Cd se absorbe en los peces a través del agua o de la dieta. Sin embargo, los estudios han demostrado que el agua es la primera fuente de ingestión, y la dieta juega un papel secundario (McCracken, 1987).

Cearly y Coleman (1974) demostraron que la concentración de Cd en el pez sol (*Lepomis Macrochirus*) y lobina negra (*Micropterus Salmoides*) alcanzó un equilibrio entre la concentración tisular y en agua al cabo de 2 meses de exposición. Este patrón de acumulación está relacionado en parte con la interdependencia de ingestión y eliminación de los elementos.

Kock *et al.* (1998) examinaron la concentración de Pb en el salvelino alpino (*Salvelinus alpinus*) en dos lagos cercanos y a lo largo del año. Existieron diferencias significativas en las concentraciones de Pb de varios tejidos del pez entre los dos periodos de muestreo (invierno y verano). En uno de los lagos, la concentración de Pb encontrada en branquias fue mayor en verano que en invierno, indicando que las branquias son la vía más importante de entrada de Pb en esta época. Durante el invierno, sin embargo la diferencia disminuye ganando importancia la entrada de Pb por vía digestiva.

Así, estos autores proponen que, para valorar la contribución relativa de los diferentes medios de absorción de los metales pesados, se mida la concentración de Pb en branquia, estómago e intestino y se establezca una relación.

En contraste con los compuestos inorgánicos del Pb, los compuestos alquílicos de Pb se absorben rápidamente por los peces y se eliminan también rápido una vez que los peces se dejan de exponer a estos compuestos (WHO, 1979).

#### ➤ **Dieta**

La dieta y hábitos alimenticios pueden condicionar los niveles de metales pesados ingeridos. Kock *et al.* (1998) encontraron una correlación positiva entre el contenido de Pb de la ingesta y sus niveles en estómago e intestino del pez *Salvelinus alpinus*. Sin embargo, la concentración de Pb en estómago e intestino fue menor en verano que en

invierno. Esta diferencia refleja el marcado carácter estacional de los componentes de la dieta. En invierno más del 85% de la dieta consumida eran larvas de quironómidos y en verano los contenidos de su dieta eran predominantemente por otros invertebrados, con menos carga de metales pesados.

Hodson *et al.* (1978) realizaron un estudio de exposición crónica de  $Pb^{2+}$  añadido en la comida de truchas arco iris (*Salmo gairdneri*). Pudieron comprobar que el Pb añadido en la dieta no fue asimilado por las truchas, de tal forma que la mayoría del Pb consumido en dieta se eliminó en las heces.

El Cu en la dieta influye en los contenidos de Cu en hígado del pez gato (*Ictalurus punctatus*), hasta el punto de existir una correlación directa y elevada entre la concentración de Cu en dieta y los niveles de Cu acumulados en hígado (Griffin *et al.*, 1997).

Es común que los peces más viejos tengan en sus tejidos concentraciones de mercurio más altas que los peces más jóvenes de la misma especie.

#### ➤ Estación del año

La estación del año no es un factor que influya de forma directa en la acumulación de metales pesados en los peces. Son otros factores relacionados con los cambios estacionales, como la composición de la dieta (comentada anteriormente) y las precipitaciones (agua de escorrentía) las que más influyen.

La primavera, en Europa, es el periodo de entrada de agua de los afluentes de ríos importantes debido sobre todo a la descongelación de la nieve y las lluvias. Por consiguiente, la carga potencial de metales pesados de fuentes externas existe, tanto en el agua, como la absorbida por los peces.

González *et al.* (1983) observaron que los niveles de Cd, Pb, Zn y Cu aumentaron drásticamente en aguas del Parque Nacional de Doñana en el otoño, tras una fuerte sequía, por lo que se deduce que las precipitaciones son uno de los factores que afectan en mayor grado a la concentración de metales pesados solubles.

Besser *et al.* (1999) evaluaron la concentración de Zn y Cu en peces *Pimephales promelas* en ríos de Colorado afectados por descargas mineras. Las aguas transportaban más carga de efluentes en primavera, pero en invierno la concentración de Zn y Cu disueltos en el agua eran mayores, aumentando la concentración de estos metales en órganos de los peces y como consecuencia, aumentando la toxicidad.

Este mayor aporte de metales a las aguas naturales en primavera es crítico porque varias especies de peces frezan en áreas de agua dulce de los afluentes y los estadios incipientes de desarrollo de un pez son susceptibles a los impactos directos de metales como el cobre y cadmio o de impactos indirectos si las fuentes de alimentos - zooplancton- se encuentran contaminadas (Hall *et al.*, 1998).

#### ➤ pH del agua

El pH del agua influye en el sentido que determina la proporción del metal total que está en forma catiónica, que es la que generalmente se considera tóxica para las especies

piscícolas. Además, los iones  $H^+$  compiten con los sitios de unión de metales pesados en las branquias de los peces. Los trabajos científicos que estudian esta relación encuentran que a medida que disminuye el pH acuático, los metales pasan a formas iónicas más fácilmente absorbibles por los peces y otros organismos.

En un estudio realizado por Livonen *et al.* (1992), en varios organismos de lagos de agua dulce próximos entre sí, descubrieron que existía una diferencia en la acumulación de metales en organismos de los lagos debido, sobre todo, a una diferencia de pH en el agua. Tanto en el caso de plantas acuáticas (*N. luteum* y *Sparganium spp*), como de peces (*Esox lucius*, *Perca fluviatilis*, *Coregonus spp*), los niveles de Pb, Cd, Zn y Cu fueron mayores en el lago Kaitajärvi o Suo-Valkeinen que en resto debido a que tenían el pH del agua más ácido.

Generalmente, el contenido de Pb encontrado en los tejidos de peces no se correlaciona con los niveles de Pb encontrados en agua de los lagos. Esta diferencia, según Kock *et al.* (1998) puede ser debido sobre todo a fluctuaciones estacionales de pH del agua. A  $pH < 5,5$  el ión libre de Pb es más disponible. Kock *et al.* (1998) realizaron un estudio sobre las variables que afectaban la acumulación de Pb en tejidos de peces en aguas naturales. En un lago donde la diferencia de pH no resultó ser mucha ( $pH 5,3-5,5$ ) a lo largo del año, y que llevaba a elevadas proporciones de  $Pb^{2+}$  constantes, era rápidamente absorbible por las branquias de los peces, aumentándose la absorción al ayudarse por el incremento de temperatura durante el verano. En otro lago, el pH cambió de ácido (6,3) en invierno a ligeramente alcalino ( $pH 7,1$ ) en verano conduciendo a un descenso de la disponibilidad de Pb en agua, compensando el efecto del aumento de temperatura sobre la absorción de Pb a través de branquias.

#### ➤ **Concentración de sales en agua**

El Ca sobre todo y menos el Mg, compiten con los mismos sitios de unión que los metales pesados, sobre todo en las branquias de los peces. De esta forma existirá una relación negativa entre los iones de Ca y Mg del agua (dureza) y la asimilación de metales pesados.

Este efecto ha sido bien estudiado en la acumulación del Cd y Cu. Sin embargo, Hollis *et al.* (1997) concluyeron que el efecto protector del Ca es a corto-medio plazo y no a largo plazo como puede ser el efecto protector del pH o de la materia orgánica.

Bajos contenidos en Ca y Mg en aguas pueden resultar en mayor acumulación de metales a través de las branquias como así lo demostró Livonen *et al.* (1992) al comparar los niveles de Pb, Cd, Zn y Cu encontrados en diferentes especies de peces en distintos lagos con diferentes concentraciones de Ca y Mg.

#### ➤ **Concentración de materia orgánica disuelta (DOM)**

El efecto protector de la DOM ocurre a causa de la formación de complejos DOM-metal pesado, reduciendo la cantidad de metal libre en el agua. Los complejos DOM-metal no se unen a las branquias.

No todos los metales se unen a la materia orgánica con la misma afinidad. El Cu es el que más se une con diferencia, seguido del Cd, Pb y Zn.



Hollis *et al.* (1997), estudiando la unión del DOM-Cu, concluyeron además, que el efecto protector de la DOM perdura y es a largo plazo.

➤ **Diferencias Interespecíficas**

Existen diferencias de acumulación de metales entre las distintas especies. Esto ha sido comprobado por casi todos los estudios realizados sobre acumulación de metales en diversas especies que comparten el mismo hábitat (Amundsen *et al.*, 1997). A grandes rasgos, las diferencias de acumulación entre especies parece estar relacionado con el estatus trófico que ostentan.

➤ **Diferencias entre sexos**

Shen *et al.* (1998), al determinar las concentraciones de metales en tejidos del pez tilapia (*Tilapia mossambica*), no encontraron diferencias significativas entre machos y hembras. Sin embargo, otros autores sí parecen encontrarlas. Así, Bobori y Economidis (1996) encontraron que los machos de la perca (*Perca fluviatilis*) tenían niveles de Cd, Pb y Zn significativamente más altos que las hembras, no ocurriendo lo mismo con el Cu, el cual no tenía diferencias.

Resultados similares fueron encontrados por Chernoff y Dooley (1979) para el Zn y Cu, no así para el Cd, atribuyéndolo al efecto de dilución causado por la masa de huevos de las hembras.

Lo que sí está claro es que las hembras y los machos poseen diferencias entre el ritmo de crecimiento y condiciones fisiológicas que pueden influir en la acumulación de los metales.

Se ha sugerido que la acumulación de Cu tiene variaciones dependientes del género en algunos peces. El pez *Castostomus commersoni* acumula mayor concentración de Cu en hígado y gónadas de hembras que en machos (Miller *et al.*, 1992), lo que sugiere que estas diferencias sexuales existen en base a un mecanismo de homeostasis de metales. Lo cierto es que, aunque puedan existir diferencias de acumulación de metales pesados con respecto al sexo, estas diferencias se dan con ciertos metales y en ciertos órganos, como es el caso sobre todo de Cu y Zn en hígado.

El músculo es un órgano que generalmente no acumula grandes cantidades de metales pesados en peces, por lo que la diferencia de niveles entre sexos es algo que está por demostrar. Griffin *et al.* (1997) expuso peces gato (*Ictalurus punctatus*) a 1,7-3,6 mg/L de sulfato de Cu durante 10 semanas no hallando diferencias de acumulación de Cu en músculo de ambos sexos.

En la mayoría de los vertebrados, el Zn hepático está en el rango de 200-600 nmol/g tejido fresco (Hogstrand *et al.*, 1996). Por el contrario, varios miembros de la familia de los peces rompemejillones (Holocentridae) acumulan Zn en el hígado en niveles extremadamente elevados (hasta 70  $\mu$ moles/g). Con la excepción de la retina de los vertebrados, estos son los mayores niveles de Zn encontrados en cualquier tejido de los vertebrados.

➤ **Tamaño corporal**

Generalmente, la relación entre la concentración de metal en el pez y el tamaño del cuerpo es negativa, pero la relación no suele ser significativa. En la literatura existen relaciones positivas, negativas o sin relación alguna. En general, los cambios en la tasa

metabólica relacionada con el crecimiento en peces y la estación, así como las variaciones en la biodisponibilidad de los metales en el medio con respecto al tiempo, la proporción superficie/volumen y el crecimiento están entre los factores responsables para dichas relaciones (Bobori y Economidis, 1996).

Vinikour *et al.* (1980) realizaron un estudio exhaustivo de la relación entre el tamaño del pez y la acumulación de Zn, Cd, Pb y Cu en todo el pez. Estos autores llegaron a la conclusión que existía una relación negativa entre estas dos variables en todas las especies estudiadas: *Lepomis macrochirus*, *Pomoxis nigromaculatus*, *Ictalurus melas* y *Perca flavescens*. Algunas de las causas de falta de correlación son:

- Se forma mayor cantidad de tejido en comparación con la cantidad de metal que se ingiere, o lo que es lo mismo, peces que crecen a un ritmo rápido y no están excesivamente expuestos a metales pesados o éstos no aumentan su concentración en el medio.
- Cuando el pez crece, existe una menor proporción de víscera, que es donde mayormente se acumulan los metales pesados.
- Cambios en los hábitos alimenticios.

Farag *et al.* (1998) realizaron un estudio en salmónidos relacionando la carga metálica con los hábitos alimenticios. Llegaron a la conclusión que las concentraciones de metales son inversamente proporcionales al tamaño del pez, de esta forma, las primeras fases de desarrollo de peces son más sensibles a la acumulación de metales pesados por dos razones: los salmónidos jóvenes (<100 mm) se alimentan exclusivamente de insectos, zooplancton e invertebrados de talla más pequeña, mientras que los peces más grandes se alimentan de otros peces y de invertebrados mayores por lo que reciben dosis menores de metales pesados.

Se ha observado que las concentraciones de Zn en el músculo de perca (*Perca fluviatilis*) y del pez blanco (*Coregonus lavaretus s.l.*) disminuyen conforme la longitud del pez aumenta (Amundsen *et al.*, 1997). Esto puede ser debido, en parte, al diferente grado de adsorción en el intestino, o que exista un mayor rendimiento de excreción en los peces más viejos (Patric y Loutit, 1978).

El Zn es un elemento esencial y está controlado homeostáticamente, por lo que esta correlación negativa entre la concentración del metal y el tamaño del pez puede ser resultado de una regulación homeostática. Por otro lado, también puede estar relacionado con los ritmos de absorción del Zn a través de branquias.

El Zn es el único elemento que se encontró en elevadas concentraciones en las branquias con respecto a músculo o hígado. Estas altas concentraciones son indicativas de la ingestión a través de branquias. El área de las branquias disminuye a medida que aumenta el tamaño del pez, de esta forma, puede resultar una gran absorción de Zn en peces más pequeños.

Las concentraciones más bajas de mercurio se encuentran en peces pequeños no depredadores y pueden aumentar varias veces conforme se asciende en la cadena alimentaria. Además de la concentración en alimentos, existen otros factores que inciden en la bioacumulación del mercurio.

## 8. Toxicidad de metales pesados para los peces

Se podría establecer tres umbrales críticos para el contenido de metales: un primer umbral, a nivel de trazas, donde los metales esenciales juegan su papel de activadores enzimáticos indispensables en el metabolismo; un segundo umbral, que determina una absorción pasiva, donde los metales van acumulándose en ciertos órganos; y un tercer umbral, incompatible con los fenómenos vitales, que desencadena procesos de defensa que tienden a disminuir la permeabilidad y el paso de estos metales a través de las membranas celulares (Labat *et al.*, 1974).

El segundo y tercer umbral han dado pie a numerosos estudios para dilucidar por un lado los efectos subletales y toxicidad crónica que se derivan de bajas acumulaciones y, cuando la concentración de metales es más elevada, realizar estudios de toxicidad aguda.

La toxicidad de los metales pesados está muy influida por las condiciones del test y las especies elegidas. Estas consideraciones se deben de tener en cuenta, sobre todo, a la hora de comparar la toxicidad relativa entre varios estudios.

### ➤ Toxicidad del Zn

La especiación química y su toxicidad relacionada no están del todo comprendidas, sin embargo, existe evidencia de la toxicidad de ciertas formas de Zn.

El ión hidratado  $Zn^{2+}-(H_2O)_6$  predomina sobre otras especies solubles (excepto en aguas con elevada dureza y pH superiores a 7,5) y se sospecha que este ión es el más tóxico, pero no el único, ya que existen estudios que revelan toxicidad del Zn con pH y dureza del agua elevados, en cuyo caso la especie carbonato de Zn suspendido parecía que aportaba cierta toxicidad. Pero la toxicidad disminuye cuando existen condiciones adecuadas para la formación de hidróxido de Zn ( $Zn(OH)_2$ ), que no es relativamente tóxico (Spear, 1981).

El rango de valores de toxicidad aguda para organismos de agua dulce varía desde 90-38.100  $\mu g/L$  y es muy similar entre peces e invertebrados. Los resultados de test crónicos también indican un rango amplio de valores, entre 47 a 852  $\mu g/L$ , pero a pesar de este rango, no parece que la dureza del agua afecte mucho sobre la toxicidad del Zn en peces (EPA, 1980).

Thompson *et al.* (1980) realizaron un estudio de toxicidad del Zn ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) en la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*), estableciendo una  $LC_{50}$  a 96 h en el Zn de 3,2 mg/L.

Según Anadon *et al.* (1984), la  $LC_{50}$  a 96 h del Zn para salmónidos es de 1 mg/L, aunque las concentraciones letales pueden variar desde 0,01 hasta 10 mg/L dependiendo de las especies y dureza del agua.

### ➤ Toxicidad del cadmio

En el medio acuático, los crustáceos parecen ser los más sensibles, seguido de los moluscos y poliquetos (Sadiq, 1992). Los organismos marinos son menos sensibles a la toxicidad del Cd disuelto que los organismos de estuario o de agua dulce.

Probablemente es el metal de los más biotóxicos que existen. Cuando se absorbe a través de la ingesta o por agua, el Cd puede dañar el riñón, pulmón, esqueleto, testículos y sistema nervioso central (Chang y Cockerham, 1994). Como el riñón acumula Cd selectivamente, el fallo renal suele ser la lesión más principal y temprana.

En peces, el Cd afecta a varios sistemas enzimáticos, como los involucrados en la neurotransmisión, transporte transepitelial, metabolismo intermediario, actividad antioxidante y oxidasas de función mixta. También se han visto deformidades en el esqueleto a exposiciones de bajo nivel.

El mecanismo de acción más conocida es que el Cd interacciona con el metabolismo del Ca en los animales. Una respuesta común en vertebrados ante la exposición de Cd es la hipocalcemia, relacionada con el flujo de calcio (Hall *et al.*, 1998). En peces causa hipocalcemia, probablemente al inhibir la ingestión de Ca del agua. Sin embargo, elevadas concentraciones de Ca en el medio acuático protegen de la ingestión de Cd.

La toxicidad es variable en los peces, pero se sabe que los salmónidos son particularmente sensibles. Los estados embrionarios y tempranos de larvas son los más sensibles, mientras que los huevos son los menos sensibles (WHO, 1992).

La LC<sub>50</sub> a 96 h del Cd en salmónidos es cercana a 1 µg/L (Pickering *et al.*, 1989). En la trucha arco iris la LC<sub>50</sub> a 96 h es de 0,5 µg/L (Hall *et al.*, 1998) y según la WHO (1992), la LC<sub>50</sub> a 96 h la establece en 6,6 µg/L.

Wren *et al.* (1995) citan que la LC<sub>50</sub> a 96 h para salmónidos está entre 1 y 29 ppb. Otras especies de peces parecen ser más tolerantes al Cd, ya que la LC<sub>50</sub> a 96 h para varias especies de ciprínidos (*Lepomis macrochirus*, *Ptychocheilus oregonensis*) resultó estar entre 1.092 a 6.500 ppb.

Los valores de toxicidad crónica varían mucho entre las diferentes especies de peces. La exposición a concentraciones de Cd (0,5 a 5,2 µg/L) durante 168 a 408 días provocó la mortalidad de 50% de varios estadios de la trucha arco iris, salmón del pacífico (*Oncorhynchus Tshawytscha*) y del Salmón plateado (*Oncorhynchus Kisutch*) (Wren *et al.*, 1995).

Las concentraciones más bajas de Cd que afectaron al crecimiento y la supervivencia de las carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) en exposiciones de 8 a 32 días, fueron entre 14,5 y 41 µg/L. Exposiciones a más largo plazo (>126 días) de 3,4 µg/L de Cd redujeron el crecimiento y la supervivencia de la trucha de Fontana (Wren *et al.*, 1995).

En conclusión, varios estudios de toxicidad crónica realizados demuestran efectos tóxicos del Cd en peces a concentraciones tan bajas como 0,5 a 1 µg/L.

### ➤ Toxicidad del plomo

La toxicidad de aguas contaminadas con Pb para los peces varía considerablemente dependiendo de la disponibilidad y la ingestión del ión de Pb. Existen factores que afectan la disponibilidad del Pb, como son la dureza del agua, pH, salinidad y materia orgánica. La ingestión también se ve afectada por la presencia de otros cationes y el contenido en oxígeno en el agua.

El Pb orgánico se absorbe más rápidamente que el Pb inorgánico. Los pocos datos disponibles sugieren que la toxicidad del Pb orgánico puede ser entre 10 a 100 veces mayor que la del Pb inorgánico. Exposiciones a largo plazo de peces adultos con Pb inorgánico induce efectos subletales en la morfología, actividad delta-ALAD y otras actividades enzimáticas y alteraciones en el comportamiento a concentraciones entre 10 y 100 mg/L (WHO, 1989).

En su mecanismo de acción tóxica, el Pb, al igual que otros metales pesados, ejerce una amplia variedad de efectos biológicos en numerosos procesos bioquímicos a nivel subcelular.

Por su similitud química con el Calcio, interfiere a nivel mitocondrial en procesos que regulan el metabolismo energético celular. A nivel hematológico ejerce una potente inhibición de enzimas que intervienen en la síntesis del grupo hemo, resultando en anemia con plumbemia. A nivel de sistema nervioso central interfiere en la síntesis y liberación de neurotransmisores (acetilcolina, dopamina, GABA), alterando la transmisión sináptica. A nivel renal las lesiones precoces asientan en los túbulos proximales y se caracterizan por cambios mitocondriales y aparición de cuerpos de inclusión nuclear, que producen afectación del tejido renal, sobre todo fibrosis, que evoluciona a insuficiencia renal (Rand y Petrocelli, 1985).

Un estudio realizado por Tabche *et al.* (1990) determinó la LC<sub>50</sub> a 72 horas para la tilapia (*Oreochromis hornorum*) en 202 mg/L de una solución acuosa de Pb<sup>2+</sup>. Alam y Maughan (1995) estimaron la LC<sub>50</sub> a 96 h en 0,44 mg Pb<sup>2+</sup>/L en carpas comunes (*Cyprinus carpio*) pequeñas (3,5 cm) y en 0,8 mg Pb<sup>2+</sup>/L en carpas de 6 cm de longitud.

La LC<sub>50</sub> a 96 h del acetato de Pb, para la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*) fue de 400 ppm (Ellgaard y Rudner, 1982).

Anadon *et al.* (1984) concluyeron que la LC<sub>50</sub> a 24 h para la trucha arco iris fue de 3,75 mg de Pb/L y la LC<sub>50</sub> a 96 h de 1,38 mg de Pb/L, aunque señalan que existe una gran variabilidad.

### ➤ Toxicidad del cobre

El Cu a bajas concentraciones es un nutriente minoritario tanto para animales como plantas, pero es tóxico para la vida acuática a concentraciones aproximadamente entre 10 y 50 veces su nivel normal.

La toxicidad del Cu se atribuye sobre todo a la forma Cu<sup>2+</sup> y, en menor frecuencia porque es menos encontrado, al CuOH<sup>+</sup>. El Cu<sup>2+</sup> rápidamente forma complejos con las sustancias inorgánicas y orgánicas y puede ser adsorbido a las partículas de materia

orgánica. Como resultado, los iones de Cu raramente están en forma libre en agua, excepto en aguas blandas y ácidas (Robinson y Avenant- Oldewage, 1997).

El Cu afecta adversamente a los peces causando alteraciones histopatológicas en las branquias, riñón, tejido hematopoyético, mecanorreceptores, quimiorreceptores y otros tejidos. El  $\text{Cu}^{2+}$  causa daño en la célula alterando los sitios activos de los enzimas y peroxidación de las membranas, causando así serias modificaciones en la célula y su medio circundante. Los efectos sobre la reproducción, como la producción reducida de huevos en hembras, anomalías en las progenies y reducción de supervivencia también se han demostrado (Hall *et al.*, 1998).

Los efectos tóxicos del cobre se suelen evitar en organismos vivos al desarrollar, por un lado, un proceso activo de eliminación del exceso de Cu ingerido en la dieta, por otro, al reducir la actividad termodinámica de los iones de Cu virtualmente a cero usando el metal sólo como elemento fuertemente unido a proteínas específicas de Cu y, por último, al interaccionar con el Zn.

Hall *et al.* (1997) recopila datos de toxicidad aguda para 121 especies animales de agua dulce y 57 especies de agua salada, así como datos sobre toxicidad crónica para 35 especies de agua dulce y 12 de agua salada.

Los ciprínidos y salmónidos contienen especies más sensibles a exposiciones agudas que otras familias de peces de agua dulce. Las especies bénticas más sensibles a exposiciones agudas de cobre son gasterópodos, seguida de anfípodos, así el rango de valores de toxicidad aguda varían desde 1,3  $\mu\text{g/L}$  para *Daphnia* a 346.700  $\mu\text{g/L}$  para especies de cangrejo.

Alam y Maughan (1995) estimaron la  $\text{LC}_{50}$  a 96 h en 0,30 mg  $\text{Cu}^{2+}/\text{L}$  en carpas comunes (*Cyprinus carpio*) pequeñas (3,5 cm) y en 1 mg  $\text{Cu}^{2+}/\text{L}$  en carpas de 6 cm de longitud.

Thompson *et al.* (1980) realizaron un estudio de toxicidad del Cu ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) en la perca de agallas azules (*Lepomis macrochirus*), estableciendo una  $\text{CL}_{50}$  a 96 h para el Cu de 1 mg/L.

La  $\text{LC}_{50}$  a 96 h para la tilapia (*Tilapia mossambica*) fue de 1,52 ppm y para la carpa común de 50 ppm, siendo ésta última más resistente (Lam *et al.*, 1998).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14  $\mu\text{g/L}$ ) y una mezcla de Cu (14  $\mu\text{g/L}$ ) y Zn (57 y 81  $\mu\text{g/L}$ ) durante 21 días no observando mortalidad en el curso de la exposición ni diferencias en el peso medio de los peces.

Buckley *et al.* (1982) realizaron test de supervivencia con salmones previamente expuestos durante 16 semanas a 0, 70 y 140  $\mu\text{g/L}$  de Cu llegando a la conclusión que los peces expuestos se volvían más tolerantes al Cu. De esta forma la  $\text{LC}_{50}$  del grupo expuestos a 140  $\mu\text{g/L}$  de Cu fue de 3 veces la de los controles y el grupo expuesto a 70  $\mu\text{g/L}$  de Cu fue significativamente más resistente que los controles.

Los valores de toxicidad crónica del Cu para peces varían desde 3,9  $\mu\text{g/L}$  para la trucha de Fontana hasta 60,4  $\mu\text{g/L}$  para el lucio (Hall *et al.*, 1998).

➤ **Toxicidad del cromo**

La toxicología acuática del cromo también depende de la evolución de las especies. El cromo (III) tiene una disponibilidad biológica y una toxicidad muy inferior a la del cromo (VI). Eso se ha observado en bálanos, *Balanus sp.*, y en el poliqueto *Neanthes arenaceodentata*. Los experimentos demostraron que la progenie del *Neanthes arenaceodentata* se ve reducida en números ante la exposición a 39 µg/L de cromo (VI) diluido (Bryan and Langston 1992).

➤ **Toxicidad del mercurio**

Es frecuente que se observe la muerte de peces en ríos o lagos ante un vertido de cierta importancia. Cuando se produce ésto, la muerte tendrá lugar por un fallo renal en los peces, debido al efecto que tiene el mercurio mineral sobre este órgano. Si el problema se debiese a un fenómeno acumulativo, el responsable sería el mercurio orgánico (metilmercurio) por afección del sistema nervioso. En este caso, los peces actúan como sensores o indicadores de un problema toxicológico para los consumidores finales.

## 9. Efectos provocados por los metales pesados

Principalmente, los efectos tóxicos de los metales pesados en peces son asfixia debida a coagulación de mucus sobre las branquias, lesión directa sobre las branquias, acumulación de metales en tejidos internos y lesiones intensas sobre estos tejidos (Anadon *et al.*, 1984).

➤ **Parámetros generales**

Los tóxicos producen efectos observables y otro tipo de efectos que, aunque incipientes y no patentes, ejercen una toxicidad subaguda en los sistemas celulares. Los efectos que podemos observar de la acción directa de los metales pesados son los principales signos que nos hacen sospechar de efectos tóxicos.

Entre los efectos observables o visibles, consecuencia de la acción directa de los metales pesados, se han citado los siguientes:

- Aumento del ritmo opercular y del reflejo de tos en truchas arco iris a una solución de 40 ppm de sulfato de Zn (Skidmore, 1970).
- Ligeró cambio de color en la piel en truchas arco iris expuestas a dosis de 19 y 25 µg/L de cloruro de Cd (CdCl<sub>2</sub>). Las espaldas y los laterales se oscurecieron, persistiendo mientras se mantiene la exposición (Ricard *et al.*, 1998).

- Oscurecimiento de la cola en trucha arco iris expuesta a 0,12 mg/L de Pb. Después de 32 semanas, el 30% de los peces que sobrevivieron mostraron este oscurecimiento de las colas (Hodson *et al.*, 1978).
- Malformaciones óseas. Holcombe *et al.* (1976) expuso 3 generaciones de truchas de Fontana (*Salvelinus fontinalis*) a nitrato de Pb en agua. Toda la segunda generación de truchas expuestas a 0,235-0,474 mg/L de Pb y el 34% de las expuestas a 0,119 mg/L mostraron deformidades espinales. El 21% de la tercera generación expuesta a 0,119 mg/L mostraron escoliosis. Además se redujo el peso de esta tercera generación.

Hodson *et al.* (1980) examinaron la posibilidad de que el efecto tóxico del Pb en salmónidos fuera debido a una deficiencia en ácido ascórbico, ya que los síntomas eran similares. Ellos no encontraron interacción entre el Pb y la deficiencia en ácido ascórbico.

Los síntomas más importantes observados en truchas inyectadas intraperitonealmente una solución de sulfato de Cu en 0,9% de NaCl (mg/kg) fue de un rápido movimiento vertical de arriba abajo que apareció tras un periodo inicial sin síntomas. El pez permanecía en posición vertical por varios minutos y luego descendía y permanecía en el fondo con un incremento del ritmo ventilatorio. Más tarde el pez permanecía en la superficie o en el fondo en decúbito supino mostrando una lenta ventilación. Antes de la muerte, se pudieron observar convulsiones (Carbonell *et al.*, 1998).

Los efectos del Mercurio en los animales son daño en los riñones, trastornos en el estómago, daño en los intestinos, fallas en la reproducción y alteración del ADN.

### ➤ **Mortalidad y crecimiento**

Una concentración de 12,7 mg/L de Cd causó muerte en una especie de percasol (*Lepomis macrochirus*), a los 21 días y las mortalidades duraron hasta los 144 días. A los 24 días, también se observó una disminución en el tamaño de los peces, lo que se traduce en una disminución del crecimiento (Versteeg y Giesy, 1986).

La trucha arco iris expuesta a 100 µg/L de cloruro de Cd, durante 47 días en agua dura (98,6 mg/L de carbonato de Ca), produjo efectos tóxicos reduciendo el crecimiento y la supervivencia (US-EPA, 1985).

Salmones del Atlántico expuestos a 2 µg/L de carbonato de Cd durante 70 días en aguas (13 mg/L carbonato de Ca) experimentaron una disminución del crecimiento (US-EPA, 1985).

### ➤ **Efectos sobre el comportamiento migratorio**

Un buen ejemplo de efectos a dosis subagudas fue el producido por los niveles de Cu y Zn en salmones atlánticos (*Salmo salar*) de ríos de New Brunswick (Canadá) corrientes abajo de zonas mineras. Niveles por debajo de los considerados como letales hizo que los salmones evitaran las aguas contaminadas. Durante los periodos de elevados niveles



de metales pesados en agua, las migraciones aguas arriba para la reproducción no se produjeron (Sprague *et al.*, 1965).

Giattina y Garton (1983) llevaron a cabo experimentos en la trucha arco iris usando sales inorgánicas de Pb y concluyeron que las truchas evitaban las aguas con contenidos de 0,026 mg/L. Jones (1948) encontró el mismo comportamiento en *Phoximus phoximus* usando valores de 0,4 mg/L de sales inorgánicas de Pb.

La trucha arco iris, expuesta a 52 µg/L de carbonato de Cd durante 80 minutos, evitó dichas aguas, afectando a su comportamiento (US-EPA, 1985).

### ➤ Efecto sobre el comportamiento predador

Salmones del Atlántico expuestos a concentraciones subletales de Cu (70 y 140 µg de Cu/L) redujeron la ingesta de alimentos inmediatamente tras la exposición. Los peces fueron recuperando el apetito gradualmente, pero la ganancia de peso se recuperó después de las 2 semanas de exposición a 70 µg/L de Cu y a las 4 semanas después en el caso de exposición a 140 µg/L de Cu (Buckley *et al.*, 1982).

El efecto de los metales pesados también se hace notar en las presas que habitualmente consumen los peces. Cambios en las comunidades bénticas expuestas a metales pesados incluyen la disminución de las poblaciones y cambios en la composición, predominando especies más tolerantes a los metales pesados.

Tal es el caso del estudio realizado por Clements y Rees (1997) en dos zonas de un río. En la primera zona, con bajos niveles de metales pesados, predominaron macroinvertebrados sensibles a los mismos, más preferidos por la trucha, mientras que en la segunda zona, contaminada por metales pesados, predominaban macroinvertebrados resistentes a estos elementos, modificando así los hábitos predatorios de la trucha marrón, que sólo podía comer este tipo de invertebrados.

### ➤ Efectos hematológicos

Truchas arco iris expuestas a 10 µg/L de CdCl<sub>2</sub> no mostraron cambios en el valor hematocrito, pero las que se expusieron a 25 µg/L sí mostraron disminución significativa (Ricard *et al.*, 1998).

Hodson *et al.* (1978) observaron que la exposición a concentraciones tan bajas como 0,013 mg de Pb/L condujo a un incremento en el número de eritrocitos, disminución en el volumen eritrocitario y del contenido eritrocitario de hierro, así como disminución en la actividad delta-ALAD. No hubo modificaciones en el hematocrito o el contenido total de hierro en la sangre y los cambios indicaron un incremento en la producción de eritrocitos para compensar la muerte eritrocitaria e inhibición de la producción de hemoglobina.

La exposición de tilapia (*Oreochromis hornorum*) a dosis subletales de una solución de plomo (30,3; 47; 62,5; 79 y 95 mg Pb<sup>2+</sup>/L) produjo una reducción proporcional de la hemoglobina sanguínea (Tabche *et al.*, 1990).

Concentraciones de 15 mg/L de nitrato de Pb a *Colisa fasciatus* durante 90 horas produjo un descenso del hematocrito y niveles de hemoglobina y un incremento del número de eritrocitos inmaduros en la circulación (Srivastava y Mishra, 1979).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14 µg/L) y una mezcla de Cu (14 µg/L) y Zn (57 y 81 µg/L) durante 21 días no observando ningún efecto sobre la hemoglobina ni hematocrito. Sí se produjo una depresión en el recuento de linfocitos comparándolos con animales no expuestos. También produjo una elevación del porcentaje de monocitos, así como neutrofilia.

Tencas (*Tinca tinca L.*) expuestas experimentalmente a 75 mg de sulfato de Cu/L de agua, desarrollaron anemia microcítica, acompañada por una clara desnaturalización de la hemoglobina eritrocitaria, que contribuyó a la muerte de los peces (Roncero *et al.*, 1992).

#### ➤ Efectos sobre bioquímica sanguínea

Al exponer carpas comunes a 6 mg/L de Zn durante 1, 15 y 30 días, se produjo una disminución significativa de la actividad colinesterasa en branquia, riñón, intestino, cerebro, hígado y músculo. Así mismo se produjo un aumento significativo en el contenido de acetilcolina en los órganos observados. Estos cambios fueron más importantes en cerebro > hígado > músculo que en branquia, riñón e intestino (Suresh *et al.*, 1992).

Dethloff *et al.* (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14 µg/L) y una mezcla de Cu (14 µg/L) y Zn (57 y 81 µg/L) durante 21 días produciendo una elevación de los niveles de la Acetilcolinesterasa cerebral que se mantuvo durante los primeros 14 días.

La exposición al Cd de varias especies de peces (múgil, trucha arco iris, tilapia y la anguila americana), aumentó el cortisol plasmático que permaneció durante varios días. Se ha sugerido que este incremento pueda funcionar para mantener elevados los niveles de glucosa circulantes después de la inducción de catecolaminas que ocurre en respuesta a agentes estresantes (Soengas *et al.*, 1996). Por esta misma razón, se encontraron niveles elevados de lactato y glucosa en salmones del Atlántico expuestos al Cd. Los niveles de glucógeno hepático disminuyeron, respuesta que es dosis-dependiente. También se produjeron cambios en la actividad de los enzimas involucrados en el metabolismo del glucógeno. Así, se produjo un incremento dosis-dependiente de la Glucógeno-fosforilasa, así como una disminución de la enzima Glucógenosintetasa, sugiriendo un incremento en el potencial glucogenolítico (Soengas *et al.*, 1996).

Al exponer truchas arco iris a 10 y 25 µg/L de cloruro de Cd durante 30 días se pudo observar una disminución del glucógeno hepático proporcional a la dosis de cloruro de Cd (Soengas *et al.*, 1996).

El incremento de la glucólisis puede estar relacionado con un aumento de la demanda de energía en el hígado. Uno de los posibles usos de esta energía pudiera ser la activación de las rutas metabólicas involucradas en la detoxificación y en la síntesis de metalotioneínas en el hígado (Olsson *et al.*, 1989).

Shaffi (1979a) examinó varios parámetros bioquímicos en 9 especies de peces de agua dulce expuestos a nitrato de Pb (5, 19, 15 y 20 mg/L). Estas concentraciones causaron glucogenolisis en todos los peces estudiados. El efecto fue mayor en el músculo, y menor en hígado, riñón y cerebro. Hubo una relación inversa entre los niveles de glucógeno en el músculo, hígado y cerebro y entre la concentración de Pb en agua, así como una relación directa entre los niveles de Pb en agua y los niveles de glucosa y lactosa sanguíneos.

La exposición a 10 ppm de sulfato de Cu incrementaron la glucosa sanguínea, LDH, GOT, GPT en 3 especies de peces, carpa plateada > carpa común > anguila europea (Nemcsok y Boross, 1982).

El pez *Tilapia mossambica* se sometió a concentraciones letales (6 mg/L) y subletales (1,5 mg/L) de cloruro de Cu durante 1,7 y 14 días. El descenso del consumo de oxígeno y los cambios en hígado y músculo (disminución de la actividad succinato deshidrogenasa y el aumento significativo de la LDH) sugirieron que los peces recurrieron a la energía a través de la oxidación anaerobia y estas enzimas pueden ser utilizados para monitorizar toxicidad inducida a metales (Balavenkatasubbaiah *et al.*, 1984).

Percasoles (*Lepomis macrochirus*) expuestos durante 32 días a 12,7 mg/L de Cd mostraron cambios en varios enzimas séricos. Después de 16 días, la actividad de la fosfatasa ácida se incrementó en un 40% y la actividad N-acetil-beta-Dglucosaminidasa lo hizo en un 250% a los 32 días, indicando un descenso en la estabilidad de la membrana lisosomal. Sin embargo, la LDH, alaninaaminotransferasa y aspartatoaminotransferasa se mantuvieron normales a lo largo de toda la experiencia (Versteeg y Giesy, 1986).

En salmones del Atlántico expuestos a 0,01 mg/L y a 0,1 mg/L de Cd no se observaron cambios en los niveles de proteína hepática (Soengas *et al.*, 1996).

Christensen (1975) examinó una serie de parámetros bioquímicos en embriones de truchas de Fontana expuestos a nitrato de Pb (entre 0,057 mg/L y 0,53 mg/L) durante 16-17 días y expuestos durante 21 días como alevines. No encontró efectos en los huevos, pero en los alevines pudo observar pérdida de peso, un incremento en la actividad fosfatasa alcalina y un incremento en la actividad acetilcolinesterasa.

Christensen *et al.* (1977) expuso truchas de Fontana adultas a concentraciones de nitrato de Pb de entre 0,009 mg/L y 0,474 mg/L durante 2 y 8 semanas. No encontraron efectos sobre el peso corporal, longitud ni en la glucosa sanguínea o niveles de lactato. Encontraron disminución significativa en los niveles de hemoglobina (exposiciones desde 58 µg/L). La actividad de transaminasas glutámico-oxalacética disminuyó. El sodio plasmático y el nivel de cloruros se elevaron después de la segunda semana.

Hodson (1976) encontró que el Pb, como nitrato de Pb, en agua a concentraciones tan bajas como 13 µg/L causó una inhibición significativa de la actividad delta-ALAD en trucha arco iris después de la 4ª semana.

Sastry y Gupta (1978) expusieron peces gato (*Channa punctata*) a 3,8 mg/L de nitrato de Pb –establecida previamente como concentración subletal- durante 15 y 30 días y luego fueron sacrificados. Se prepararon muestras de estómago, intestino, ciego pilórico e hígado para la estimación de las actividades enzimáticas. No hubo cambios en la actividad fosfatasa alcalina en hígado o estómago, pero en intestino y ciego pilórico se inhibieron después de 15 días de exposición. Después de los 30 días, la actividad fosfatasa alcalina difería de los controles en el ciego pilórico, pero ahora existiendo un aumento de la actividad.

Después de 15 días de exposición se observó una elevación de la actividad fosfatasa ácida en todos los tejidos.

### ➤ Otros efectos

El  $Zn^{2+}$ , cuando se acumula en branquias, produce una alteración de su epitelio. Como consecuencia, se va a alterar la presión osmótica del plasma sanguíneo arterial o en el contenido iónico. Concentraciones altas de Zn (40 ppm) pueden producir la muerte de la trucha arco iris por hipoxia tisular (Skidmore, 1970).

Concentraciones subletales de Cd (1 mg/L de cloruro de Cd) y Pb (100 mg/L de  $(NO_3)_2Pb$ ) no causaron notables efectos sobre la actividad ATPasa en branquias de *Procambarus clarkii* después de 12, 48 y 96 horas de exposición (Torreblanca et al., 1989). Sin embargo, la exposición a Pb a las 48 horas produjo una mayor actividad Mg-ATPasa, por lo que puede indicar que la Mg-ATPasa sea más sensible que la Na,K-ATPasa en las branquias del cangrejo *P. clarkii*. Canli y Stagg (1996) estudiaron el efecto de la exposición de Cd, Cu y Zn sobre la actividad de las ATPasas del crustáceo marino *Nephrops norvegicus*, llegando a la conclusión que sí son sensibles a la exposición de metales, pero no de una forma elevada atribuyendo esta falta de significación a las bajas concentraciones utilizadas (1,5 y 25  $\mu g/L$  de Cd y Cu y 8, 40 y 200  $\mu g/L$  de Zn).

Thomas y Wofford (1993) expusieron el pez corvión brasileño (*Micropogonias undulatus*) a 5 mg/L de Cd durante 6 días seguido de una exposición a 1 mg/L de Cd durante 33 días, resultando en una elevación de los niveles de malondialdehído en homogenados y microsomas hepáticos y en ovarios. También se produjo un descenso en la actividad glutatión-peroxidasa y en el contenido de ácido ascórbico en ambos tejidos. Esto representa una cierta degradación celular y respuesta de los mecanismos de detoxificación celulares.

Resultados similares de incremento hepático de la lipoperoxidación lipídica (aumento del malondialdehído) se ha observado en el pez gato (*Ictalurus punctatus*) expuestos a nitrato de Pb en concentraciones de 5, 10 y 15 ppm (Chaurasia et al., 1996).

Dethloff et al. (1999) expusieron truchas arco iris a concentraciones subletales de Cu (14  $\mu g/L$ ) y una mezcla de Cu (14  $\mu g/L$ ) y Zn (57 y 81  $\mu g/L$ ) durante 21 días. Esta exposición produjo un efecto en la producción del anión superóxido por macrófagos elevando el ritmo respiratorio celular. También se ha comprobado el efecto del Cu sobre la ionorregulación, produciendo una inhibición de la absorción de Na por las branquias,

provocando una disfunción en la regulación osmótica del plasma de los peces (Hollis *et al.*, 1997).

Los iones de Cu, resultado de una intoxicación experimental por sulfato de Cu (75 mg/L) en la tenca (*Tinca tinca L*), inhibieron el sistema piruvato deshidrogenasa, interrumpiendo la producción de energía de hepatocitos e inhibiendo la absorción de sodio, modificando así la permeabilidad de la membrana celular e inhabilitando la capacidad de síntesis de proteína, representada en la disminución, sobre todo, de ceruloplasmina (Roncero *et al.*, 1992).

El cortisol plasmático expresado en ng cortisol/mg proteína mostró un incremento significativo en las truchas expuestas a 10 y 25 µg/L de cloruro de Cd durante 30 días, no así cuando se expresa en ng de cortisol/ml de plasma, ya que el tratamiento con cloruro de Cd produce hipoproteinemia (Ricard *et al.*, 1998).

Chaurasia *et al.* (1996) administraron 5, 10 y 15 ppm de nitrato de Pb en acuarios al pez gato, y concluyeron que la concentración de hormona tiroidea (T3) disminuyó, a causa de la inhibición de la enzima 5'-D que es responsable de la conversión de la T4 a la T3, siendo éste la ruta más importante de la génesis de T3.

#### ➤ Hallazgos anatomopatológicos

Peces de una especie de percasol (*Lepomis macrochirus*), expuestas a 12,7 mg/L de Cd durante 32 días, desarrollaron córneas opacas más abultadas y lesiones ulcerativas de la dermis. Estas lesiones se localizaron típicamente en la superficie lateral superior a la inserción de la aleta pectoral, base de la garganta y cerca de las branquias. Percasoles expuestos a la misma dosis de Cd durante 163 días causaron pocas lesiones en los órganos internos. Se observaron lesiones en las branquias, mostrando hiperplasia e hipertrofia. Los filamentos estaban engrosados y separados (Versteeg y Giesy, 1986).

En el bazo de los peces expuestos se redujo el área blanca a los 14 días de exposición a Cd, atribuible a una redistribución de linfocitos, lo que puede representar un efecto no deletéreo para los peces (Ohsawa *et al.*, 1983). Las lesiones que Roncero *et al* (1990) encontraron en la tenca (*Tinca tinca, L.*), tras exposición a 75 mg de nitrato de Pb/L de agua, se localizaron básicamente en las branquias. Estas lesiones incluyeron hiperplasia y necrosis de las células epiteliales del espacio interlamillar, proceso ya evidente a las 24h tras la administración del tóxico. En el espacio extracelular se pudo apreciar un material granular electrodensito, que podría tratarse de partículas de Pb. Posteriormente, se produjo necrosis celular y muerte de las tencas hacia el 9º día.

Una exposición a 30,3; 47; 62,5; 79 y 95 mg/L de una solución acuosa de Pb<sup>2+</sup>, produjo alteraciones en la estabilidad de la membrana lisosomal (medido por la liberación de ácido fosfatasa) de las branquias de la tilapia (*Oreochromis hornorum*), proporcionales a la dosis recibida. Concluyen el estudio diciendo que la evidencia de inestabilidad de la membrana lisosomal es un indicador sensible para monitorizar la contaminación de plomo en agua.

Zeeman y Brindley (1981) encontraron que peces expuestos entre 1 y 3,2 mg/kg de Cu<sup>2+</sup> mostraron un incremento elevado en la necrosis de los tejidos intersticiales hematopoyéticos del riñón del pez.

Roncero *et al.* (1992) expusieron experimentalmente tencas (*Tinca tinca L*) a 75 mg de sulfato de Cu/L agua. El hígado fue el órgano de almacén de las sales de cobre, provocando edema periportal y en fases finales (12 días) abundante infiltración de células reticuloendoteliales repletas de pigmento hemoglobinémico. Hacia el día 6 de la exposición se produjo degeneración vacuolar que condujo más tarde a necrosis que cubría largas áreas del hepatocito y consecuentemente, desintegración del mismo.

Gómez *et al.* (1998) expusieron experimentalmente tencas (*Tinca tinca L.*) a 13,5 mg/L de sulfato de Cu. Las lesiones más características fueron hiperplasia del epitelio interlamillar e incremento de las células epiteliales del espacio interlamillar que al final conducen a necrosis (evidentes al 4º día de exposición).

## 10. Factores que afectan la toxicidad de metales pesados

### ➤ Forma química del metal

Los compuestos orgánicos suelen ser más biodisponibles que las formas inorgánicas de los metales pesados. Sin embargo, las formas inorgánicas son más solubles en los ambientes acuáticos.

Por lo tanto, el estado orgánico o inorgánico de los metales pesados condicionará su solubilidad o no en agua, o lo que es lo mismo, cuanto más insoluble, más unido a la materia orgánica, siendo así menos biodisponible. Sin embargo, las sustancias orgánicas que estén disueltas en agua o vehiculadas por ella y contacten con la superficie de las branquias de los peces serán, sin duda alguna, más biodisponibles y penetrarán mejor. Esto ocurre con numerosos tóxicos y los metales pesados son un ejemplo más a añadir.

### ➤ Dureza del agua

En los estudios de toxicidad en agua dulce con metales pesados, la dureza (concentración de calcio y magnesio y sus sales de carbonato y bicarbonato) es una de las variables de calidad que influye significativamente en la toxicidad de estos metales pesados. A medida que la dureza se incrementa, la toxicidad de los metales traza para la vida acuática disminuye debido a la menor biodisponibilidad del metal o alteración de la capacidad osmorregulatoria del organismo.

La toxicidad del Cd para los organismos acuáticos es inversamente proporcional a la dureza del agua, por lo que a medida que aumentan estas sales en el agua, la toxicidad del Cd se modera al unirse con carbonatos y con los iones de calcio (Versteeg y Giesy, 1986).

Sin embargo, se ha descubierto que al aumentar la concentración de iones Ca y H<sup>+</sup> en el medio, los iones de Cd se acumulan más en las branquias. El Cd es absorbido más por las branquias debido a su afinidad por los canales de Ca, pero realmente los iones libres de Cd son los que se unen, mientras que los complejos de Cd no suelen unirse para absorberse a las branquias (Playle *et al.*, 1993).

Jones (1938) expuso peces espinosos (*Gasterosteus aculeatus*) a nitrato de Pb bajo condiciones estáticas, reemplazando el agua cada 24 horas y observó el tiempo de supervivencia. La adición de 2 mg/L de cloruro de calcio a una solución de exposición de 50 mg/L de nitrato de Pb alargó el tiempo de supervivencia en más de 10 días.

Davies *et al.* (1976) estudiaron la toxicidad aguda del nitrato de Pb en la trucha arco iris (*Salmo gairdneri*) con diferentes grados de dureza del agua. Las sales de Pb tienden a precipitar en aguas duras, por lo que las LC<sub>50</sub> a las 96 h obtenidas fueron mayores en aguas más duras.

El Cu es un metal no ajeno a este comportamiento, resultando así que la disponibilidad de los iones de Cu son menores en aguas duras que blandas, ya que el Cu forma complejos con los carbonatos (Cairns *et al.*, 1975).

En el caso del Cu, la LC<sub>50</sub> para la trucha de río está en un rango de 0,02-0,1 mg/L para agua blanda y de 0,5-1 mg/L para agua dura (Anadon *et al.*, 1984).

#### ➤ **Concentración de oxígeno disuelto**

Los niveles de oxígeno disuelto tienden a ser bajos en aguas ciertamente contaminadas, mientras que las pruebas de toxicidad se llevan a cabo en aguas saturadas de oxígeno. Teniendo en cuenta esto, Lolyd (1961) examinó el efecto de variar la concentración de oxígeno disuelto en la toxicidad de sales de Pb en agua. A 65% de oxígeno, la toxicidad del Pb se incrementó 1,2 veces más que al usar agua saturada de oxígeno y niveles de saturación del 40% produjo un aumento de 1,4 veces más de toxicidad.

#### ➤ **Influencia del pH acuático**

Generalmente, el efecto del pH es importante ya que determina la especiación química de los metales pesados. A pH ácidos existe una mayor solubilidad y por tanto disponibilidad de los iones metálicos, por lo que aumenta la toxicidad de los metales pesados.

Sin embargo, en el caso del Cd, un pH bajo del agua parece reducir la toxicidad del Cd para algas y peces. Se ha sugerido que la causa de esta reducción en la toxicidad es por la competición generada entre los iones libre de H<sup>+</sup> y los cationes libres de Cd en los sitios de unión celulares (Wren *et al.*, 1995).

Hodson *et al.* (1978), expusieron truchas de 4 meses a concentraciones de Pb entre 0 y 1 mg/L, y encontraron que los niveles de Pb en sangre se incrementaban a medida que el pH del agua descendía de 10 a 6. Los niveles mayores de Pb en sangre (aproximadamente 10 mg/L) se midieron después de la exposición a pH 6, mientras que la concentración del agua fue de 180 µg/L de Pb. Esto suponía un factor de concentración cercano a 50 en sangre sobre el agua. Los autores calcularon que un descenso de una unidad de pH resultaba en un incremento del Pb sanguíneo de 2,1 veces.

El Cu en los ambientes acuáticos es móvil y soluble a pH bajos. En condiciones alcalinas, el Cu precipita resultando ser no tóxico. Andrew *et al.* (1977) encontraron que ligeros incrementos en la concentración de H<sup>+</sup> (pH 7,6 a 8) condujeron a una disminución de la toxicidad del Cu<sup>2+</sup> libre.

La acidificación potenció significativamente la toxicidad del sulfato de Cu en la trucha arco iris, causando serios problemas fisiológicos y bioquímicos, entre otros, la inhibición de la actividad acetilcolinesterasa y, consecuentemente, la alteración de la función nerviosa en órganos vitales, como el corazón (Hughes y Nemcsók, 1988). Otros autores, como Howarth y Sprague (1978) también han observado que el Cu es más tóxico a pH 5,4 que a pH 7,3.

Según Miller y Mackay (1980), paradójicamente, entre pH 4,34 y 4,7 el Cu es menos tóxico que a pH 7,3. Estos autores sugieren que, aunque tanto el ácido como el Cu estimulan la producción de mucus en el pez, el estímulo producido por el ácido predomina y además que el Cu y reduce su toxicidad.

#### ➤ Efecto de la salinidad del agua

Es una característica que afecta más a los ambientes marinos, pero que puede resultar útil tenerla en cuenta a la hora de realizar ensayos en el laboratorio con especies marinas, ya que se ha visto que algunos metales aumentan la toxicidad al disminuir la concentración de sal en el medio acuático.

Somero *et al.* (1977) expusieron peces teleósteos de estuario (*Gallichthys mirabilis*) a concentraciones de acetato de Pb de 2,65 mg/L durante 36 días en 100% de agua de mar (salinidad del 3,36%) y en agua de mar de otras salinidades (2,52%, 1,68% y 0,84%). El contenido de Pb en todos los tejidos estudiados mostró un incremento al disminuir la salinidad. Los niveles más altos se encontraron en bazo, cuyo factor de concentración fue de alrededor de 74,4 para el agua con salinidad del 3,36% y de 137,7 para el agua con 0,84% de salinidad (WHO, 1989).

#### ➤ Efecto de la temperatura del agua

El metabolismo (y por tanto la ventilación en branquias) muestra un incremento con la temperatura, lo que probablemente facilite la ingestión. Los estudios parecen revelar que la temperatura ejerce un efecto directo sobre la toxicidad, de tal forma que al aumentar la temperatura, aumenta la toxicidad de algunos metales pesados.

Aunque se han hecho varios estudios sobre el efecto de la temperatura sobre la toxicidad del Zn, no se llega a una conclusión clara, ya que se citan aumentos de la toxicidad del Zn y en otros estudios no parece que se vea afectada la toxicidad del Zn al aumentar la temperatura.



Hodson y Sprague (1975) dan una explicación definitiva para esta variedad de respuestas. Utilizando el Salmón del Atlántico en el experimento, llegaron a la conclusión que los peces son más sensibles al Zn a elevadas temperaturas cuando el estudio se hace con exposiciones durante un periodo corto de tiempo.

A medida que la duración de exposición aumentaba, el efecto de la temperatura se iba reduciendo progresivamente, e incluso el efecto llega a invertirse a las 2 semanas de exposición, siendo la toxicidad menor en aguas con mayor temperatura.

Truchas aclimatadas a 6°C mostraron un umbral de letalidad al Cd 3 veces superior que truchas en estanques a 18°C. Esta elevación de la toxicidad del Cd al aumentar la temperatura se correlacionó con la supresión del calcio plasmático por el Cd, ya que la hipocalcemia es uno de los mecanismos tóxicos clave del Cd (Roch y Maly, 1979).

Lemus y Chung (1999) realizaron un estudio con alevines del pez *Petenia kraussii* exponiéndolos a dos concentraciones subletales (0,2 y 1,2 ppm) de Cu durante 4 semanas y a dos regímenes de temperatura (22 y 30°C). Llegaron a la conclusión de que la concentración de exposición, el tiempo y la temperatura son factores importantes en la acumulación y eliminación del Cu, de tal forma que el aumento de temperatura facilitó la acumulación del Cu.

De acuerdo con Cairns *et al.* (1975), el tiempo de supervivencia de los peces expuestos al Cu se acorta al incrementar la temperatura.

En estudios realizados por la OMS en percas (*Lepomis macrochirus*) expuestas a una solución de Pb, a dos regímenes diferentes de temperatura (10 y 20-25°C) durante 42 días en agua de mar normal, se encontró que si se aumentaba la temperatura, el contenido de Pb se elevaba (WHO, 1989).

### ➤ Influencia de agentes quelantes

Los agentes quelantes son sustancias que poseen una elevada afinidad por los elementos metálicos, por lo que es de esperar que al secuestrar los iones metálicos de los metales pesados ejerzan un efecto positivo disminuyendo la toxicidad de los mismos. Muramoto (1980) mantuvo carpas comunes (*Cyprinus carpio*) durante 48 horas en concentraciones de nitrato de Pb que variaron entre 0 y 20 mg/L con o sin uno de estos quelantes: EDTA, NTA o DTPA. Los agentes quelantes redujeron la ingestión de Pb a todas las dosis de exposición.

El carbón orgánico disuelto (DOC) es un término general para definir los productos de degradación de la materia orgánica. En agua dulce, la fuente de DOC proviene principalmente de las plantas. Se compone de ácidos húmico y fúlvico, con grupos carboxilos y fenoles que son los responsables de la quelación metálica (Morel y Hering, 1993).

Este DOC actúa formando complejos con los metales de tal modo que los iones metálicos libres están menos disponibles para absorberse por las branquias. El Cu se une unas 50 veces mejor al DOC que a las branquias, no sucediendo así con el Cd que es parcialmente unido por el DOC.

Concentraciones de DOC > que 4,8 mg/L evitaron que el cobre se acumulara en las branquias de las carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) (Playle *et al.*, 1993). La fuente y tamaño de la fracción de DOC no influye en su efecto protector frente a la acumulación de Cu en las branquias, como tampoco lo hace el envejecimiento de las uniones metal-DOC (Hollis *et al.*, 1996).

### ➤ Edad de los peces

La edad de los peces se encuentra relacionada con respecto a la toxicidad de los metales, de tal manera que son más dañinos cuando los peces están en las etapas primeras del desarrollo y crecimiento.

Se sabe que los huevos de los peces son tolerantes al Cd, ya que la cápsula de estos actúa como barrera protectora. En las especies de salmónidos a las que se les ha realizado varios estudios de toxicidad crónica con Cd, se ha visto que los estados juveniles más tardíos son más sensibles que los estados más tempranos de alevines o de estados adultos (Wren *et al.*, 1975).

La LC<sub>50</sub> a 96 h para jóvenes (0,2 g) de trucha de Fontana (*Salvelinus fontinalis*) fue de 2,4 µg/L, muy baja comparada con los 5080 µg/L en animales de 100 gramos. Caso similar ocurrió con carpitas cabezonas (*Pimephales promelas*) en las que la LC<sub>50</sub> a las 96 h fue de 11-54,2 µg/L en peces de un día y de 1280- 7160 µg/L para peces de 30 días (Wren *et al.*, 1995).

### ➤ Sexo

Tsai y Chang (1981) demostraron que existe una gran diferencia en la susceptibilidad al Cu y Cd entre machos y hembras del guppy común (*Lebistes reticularis*), si bien, otra variable que influye es la diferencia de tamaño de los sexos.

En el caso del pez mosquito (*Gambusia affinis*), cuyos sexos son comparables en tamaño, Chagnon y Guttman (1989) encontraron que los machos son 2,4 veces más sensibles a la mortalidad que las hembras a las mismas dosis de Cu. Perkins *et al.* (1997) estudiaron el efecto de la exposición a sulfato de Cu y lo relacionaron con el sexo del pez gato (*Ictalurus punctatus*). Los machos del pez gato mostraron ser más susceptibles a la letalidad del Cu durante la exposición, que duró 10 semanas, pero esta diferencia disminuyó cuando se incrementaba el tiempo de exposición.

## 11. Fenómeno de adaptación - Factor que modifica la toxicidad de metales pesados

Cuando las poblaciones se exponen a contaminantes en su medio ambiente, es muy probable que estos contaminantes tengan un efecto sobre la supervivencia y/o reproducción de los seres más sensibles de la población. Si la sensibilidad relativa a la

contaminación es heredable, la exposición a contaminantes actuará con presión selectiva resultando en un incremento de la resistencia de las poblaciones de la siguiente generación. Esta adaptación puede traer consecuencias ya que las poblaciones adaptadas pueden permanecer en áreas contaminadas a pesar de la contaminación.

Se conocen plantas adaptadas a minas abandonadas de Gran Bretaña, poliquetos, como el *Nereis diversicolor*, que habita ríos a los que drenan áreas mineras, o incluso oligoquetos de ambientes acuáticos contaminados con Cd.

Stubblefield *et al.* (1999) comprobaron en ejemplares adultos y juveniles de trucha arco iris que la exposición previa a dosis subletales de Zn y de Cd modificó notablemente su respuesta a dosis letales posteriores. Así, la concentración de Zn o Cd que producía efectos letales tempranos se elevó 3 veces (Zn) y 2 veces (Cd) cuando se exponían previamente a concentraciones subletales de 324 mg/L de Zn y 10,2 mg/L de Cd. Una aclimatación similar, pero menos acusada, se dio en ejemplares jóvenes.

El estudio de Klerks y Lentz (1998) sobre los niveles de Pb y Zn en sedimentos, agua y el pez gambusino (*Gambusia affinis*) de Bayou Trepagnier (Louisiana) mostró unas elevadas concentraciones en los peces, consideradas como "frecuentemente asociadas con efectos adversos". Los niveles de Pb en agua también estaban por encima de los criterios de calidad de agua propuestos por la US-EPA en 1986. El Pb y el Zn fueron biodisponibles para el gambusino, como lo indicaron las elevadas cantidades de Zn ( $277 \pm 9$  µg/g ps) y Pb ( $898 \pm 306$  ng/g ps) encontrados en el pez. La conclusión final fue que el gambusino de esta zona era más resistente al Pb que congéneres de zonas control y por el contrario, no hubo diferencias en la resistencia de Zn. Esta disimilitud entre los dos metales puede ser consecuencia de la mayor bioacumulación del Pb con respecto al Zn.

La resistencia incrementada al Pb ya no fue evidente después de que los peces se mantuvieran en agua limpia durante 34 días. Esto indica que esta resistencia es sólo temporal y que es más bien consecuencia de una aclimatación fisiológica más que una adaptación genética, debido a la inducción de sistemas detoxificadores como metalotioneínas o citocromo P450. Aunque la aclimatación al Pb se ha visto en invertebrados acuáticos pero no parece haberse demostrado en todo tipo de peces.

Mientras que una base medioambiental de las diferencias en la resistencia de Pb es una posible explicación, la resistencia expresada genéticamente no puede ser totalmente excluida. Una población podía estar genéticamente adaptada a un contaminante y lograr una más rápida inducción de los sistemas de detoxificación al exponerse a bajos niveles de contaminación, aunque tales diferencias genéticas no serían evidentes cuando los peces se exponen a niveles tóxicos agudos sin ser previamente expuestos a concentraciones menores (Klerks y Lentz, 1998)

## 12. BIBLIOGRAFIA

**Alam, MK; Maughan, OE.** 1995. "Acute toxicity of heavy metals to common carp (*Cyprinus carpio*)". *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 30 (8); 1807-1816.

- Allen-Gil SM ; Gubala CP ; Landers DH ; Lasorsa BK ; Crecelius EA ; Curtis LR.** 1997. "Heavy metal accumulation in sediment and freshwater fish in U.S. Arctic lakes". ; *Environ Toxicol Chem* 16 (4): 733-41.
- Amundsen, PA; Staldvik, FJ; Ludin, AA; Kashulin, NA; Popova, OA; Reshetniko.** 1997."Heavy metal contamination in freshwater fish from the border region between Norway and Russia". *The Science of the Total Environment* 201: 211-224.
- Anadon, A; Muñoz, MJ; Ortiz, JA.** 1984. "Acumulación tisular de Zinc, Plomo, Cobre, Hierro y Cromo en Truchas de Río, Salmo trutta fario. Acción ecotoxicológica". *An. INIA/Ser. Ganadera n°19*.
- Andrew, RW; Biesinger, KE; Glass, GE.** 1977. "Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to Daphnia magna". *Water Res.* 11: 309-315.
- ATSDR (1990) Toxicological Profile for Chromium. U.S. Dept of Health & Human Services, Atlanta, USA.**
- Ashraf, M; Jaffar, M.** 1988. "Correlation between some selected trace metal concentrations in six species of fish from the Arabian sea". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 41; 86-93.
- Balavenkatasubbaiah, M; Rani, AU; Geethanjali, K; Purushotham, KR; Ramamurthi, R.** 1984. "Effect of cupric chloride on oxidative metabolism in the freshwater teleost, *Tilapia mossambica*". *Ecotoxicol Environ Safety* 8 (3): 289-93.
- .Benemariya H; Robberecht, H; Deelstra, H.** 1993. "Atomic absorption spectrometric determination of zinc, copper, and selenium in fish from Lake Tanganyika, Burundi, Africa". *Sci Total Environ* 105: 73-85.
- Benemariya, H; Robberecht, H; Deelstra, H.** 1991. "Atomic absorption spectrometric determination of zinc, copper, and selenium in fish from lake Tanganyika, Burundi, Africa". *The Science of the Total Environment*, 105: 73-85.
- Besser, JM; Allert, AL; Hardesty, DK; May, TW; Leib, KJ.** 1999. "Seasonal variation of metal toxicity in streams affected by acid mine drainage". *20th Annual Meeting Soc. Environ. Tox.And Chem. Nov: 14-18. Philadelphia P.A..*
- Bobori, DC; Economidis, PS.** 1996. "The effect of size, sex and season on the accumulation of heavy metals in Perch (*Perca fluviatilis* L., pisces: percidae) in lake Koronia (Macedonia, Greece). *Toxicological and Environmental Chemistry*, vol 57: 103-121.
- Bryan, G.W. and Langston, W.J. (1992).** Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution* 76: 89-131
- Buckley, JL.** 1979. "Nontarget Effects of Pesticides en the Environment". *Pesticides,contemporary roles in agriculture, health and environment. Sheets& Pimentel (Eds), Humana Press, pp 73-82.*
- Buckley, JT; Roch, M; McCarter, JA; Rendell, CA y Matheson, AT.** 1982. "Chronic exposure of Coho Salmon to sublethal concentrations of copeer-I. Effect on growth, on accumulation and distribution of copper, and on copper tolerance". *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 72C, n° 1, pp 15- 19.
- Budavari, S.** 1996. "The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals".ed. *Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc..*
- Callahan MA ; Slimak MW ; Gabel NW ; May IP ; Fowler CF.** 1979. "Water-Related Fate of 129 Priority Pollutants Vol I". pp. 9-1 to 9-20, *USEPA-440/4-79-029A.*

- Camusso, M ; Vigano, L ; Balestrini, R.** 1995. "Bioconcentration of trace metals in rainbow trout. A field study". *Ecotoxicology and environmental safety* 31 (2):133-141.
- Canli, M; Stagg, RM.** 1996. "The effect of in vivo exposure to Cadmium, Copper and Zinc on the activities of gill ATPases in the Norway Lobster, *Nephrops norvegicus*". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 494-501.
- Carbonell, G; Tarazona, JV.** 1990. "Toxicidad por adición de sulfato de cobre en piscifactorías" en Actas del II Congreso Español de Acuicultura. pp 917-922.
- Carbonell, G; Tarazona, JV.** 1994. "Toxicokinetics of copper in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)". *Aquatic Toxicology* 29: 213-221.
- Cearly, JL; Coleman, RL.** 1974. "Cadmium toxicity and bio concentration in largemouth bass and bluegill". *Bull Environ Contam Toxicol* 11 (2): 146-151.
- Chang, LW; Cockerham, LG.** 1994. "Toxic metals in the environment". *Basic Environmental Toxicology*. xi+627p. CRC Press, Inc.: Boca Ratón, Florida, USA.
- Chaurasia, SS; Gupta, P; Kar, A; Maiti, PK.** 1996. "Lead induced thyroid dysfunction and lipid eroxidation in the fish *Clarias batrachus* with special reference to hepatic type I-5'- Monodeiodinase Activity". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56: 649-654.
- Chernoff, B; Dooley, JK.** 1979. "Heavy metals in relation to the biology of the mummichog *Fundulus heteroclitus*". *J Fish Biol* 14 (3): 309-328.
- Chevreuil, M; Blanchard, M; Teil, MJ; Carru, AM; Testard, P; Chesterikoff, A.** 1996. "Evaluation of the pollution by organochlorinated compounds (Polychlorobiphenyls and pesticides) and metals (Cd, Cr, Cu and Pb) in the water and in teh zebra mussel (*Dreissena polymorpha pallas*) of the river Seine". *Water Air and Soil Pollution* 88 (3-4): 371-381.
- Christensen, G; Hunt, E; Fiandt, J.** 1977. "The effect of methylmercuric chloride, cadmium chloride and lead nitrate on the biochemical factors of the brook trout *Salvelinus fontinalis*". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 42: 523-530.
- Christensen, GM.** 1975. "Biochemical effects of methulmercuric chloride, cadmium chloride, and lead nitrate on embryos and alevins of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*". *Toxicol, Appl. Pharmacol.*, 32: 191-197.
- Clements, WH; Rees, DE.** 1997. "Effects of heavy metals on prey abundance, feeding habits, and metal uptake of Brown Trout in the Arkansas River, Colorado". *Transactions of the American fisheries Society* 126: 774-785.
- Commission of the European Communities.** Trace Metals: Exposure and Health Effects, Oxford, Pergamon Press (1979).
- Cross, FA; Hardy, LH; Jones NY; Barber, RT.** 1973. "Relation between total body weight and concentratrions of manganese, iron, copper, zinc and mercury in white muscle of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) and a bathyl-demersal fish *Antimora rostrata*". *J. Fish Res. Bd. Can.* 30:1287-1291.
- Cruz ER, Muroga K.** 1985. "Fish pathology". *Gyobyu Kenkyu* 20 (4): 459-61.
- Cuthbert, ID; Kalff, J.** 1993. "Empirical models for estimating the concentrations and exports of metals in rural rivers and streams". *Water air and soil Pollution* 71 (3-4): 205-230.
- Davies PH; Goettl, JP; Sinley, JR; Smith, NF.** 1976. "Acute and chronic toxicity of lead to rainbow trout *Salmo gairdneri*, in hard and soft water". *Water Res.*, 10: 199-206.

- Deacon, JR; Driver, NE.** 1999. "Distribution of trace elements in streambed Sediment associated with mining activities in the upper Colorado River Basin, Colorado, USA, 1995-96. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37: 7-18.
- Dethloff, GM; Schlenk, D; Hamm, JT; Bailey, HC.** 1999. "Alterations in physiological parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exposure to copper and copper/Zinc mixtures". *Ecotoxicology and Environmental Safety* 42, 253-264.
- Ellgaard, EG; Rudner, TW.** 1982. "Lead acetate: Toxicity without effects on the locomotor activity of the bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*". *J. Fish Biol.*, 21 (4): 411-416.
- Estándar Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA-AWWA-WPCF.** 1992. "Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales". *American Public Health Association, Washington, 16 th ed.*
- Farag, AM; Woodward, DF; Goldstein, JN; Brumbaugh, W; Meyer, JS.** 1998. "Concentrations of metals associated with mining waste in sediments, biofilm, Benthic Macroinvertebrates, and fish from the Coeur d'Alene River Basin, Idaho". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 119-127.
- Forstner, N; Wittman, GTW.** 1979. "Metal pollution in the aquatic environment". *Springer-Verlag, Berlin.*
- Friedman, AL.** 1995. "Effects of lead administration on developing rat kidney: II. Functional, morphologic, and immunohistochemical studies". *Toxicology and Applied Pharmacology* 131 (1): 94-107.
- Friedman, B.** 1995. "Environmental Ecology". *Academic Press, New York, pp 64-65.*
- Gaja, RJ; Capar, SG; Subjoc, CA; Sanders, M.** 1982. "Determination of lead and cadmium in foods by anodic stripping voltammetry: I. Development of method". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 65 (4): 970-977.
- Galindo, L; Hardisson, A; García MF.** 1986. "Correlation between lead, cadmium, copper, zinc and iron concentrations in frozen tuna fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 36: 595-599.
- García Fernández, AJ.** 1994. "Impregnación por plomo y cadmio en aves silvestres de la región de Murcia". Tesis doctoral. Universidad de Murcia, septiembre de 1994.
- Giattina, JD; Garton, RR.** 1983. "A review of the preference-avoidance responses of fishes to aquatic contaminants". *Residue Rev.*, 87: 43-90.
- Gibbs, PJ; Miskiewicz, AG.** 1995. "Heavy metals in fish near a major primary treatment sewage plant outfall". *Marine Pollution Bulletin.* 30(10): 667-674.
- Giesy, JR; Wiener, JC.** 1977. "Frequency distribution of trace metal concentrations in fieve freshwater fishes". *Trans Am Fish Soc* 106: 393-403.
- Gómez, L; Masot, J; Soler, F; Durán, E; Roncero, V.** 1998. "Structural and ultrastructural study of the gills of tench (*Tinca tinca, L*) after experimental poisoning with copper sulphate". *Revue Méd. Vét.*, 149 (5): 387-394.
- Griffin, BR; Hobbs, MS; Gollon, JL.** 1997. "Effect of waterborne copper sulfate exposure on copper content in liver and axial muscle of Channel Catfish". *Journal of Aquatic Animal Health* 9: 144-150.
- Grosell, MH; Gogstrand, C; Wood, CM.** 1998. Renal Cu and Na excretion and hepatic Cu metabolism in both Cu acclimated and non acclimated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 40: 275-291.

- Gümgüm, B; Ünlü, E; Tez, Z; Gülsün, Z.** 1994. "Heavy metal pollution in water, sediment and fish from the Tigris River in Turkey". *Chemosphere*, vol 29, nº1: 111-116.
- Hall, LW; Sott, MC; Killen, WD.** 1998. "Ecological risk assessment of copper and cadmium in surface waters of Chesapeake Bay Watershed". *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol 17, nº 6, pp. 1172-1189.
- Hamza-Chaffai, A; Roméo, M; El Abed, A.** 1996. "Heavy metals in different fishes from the Middle Eastern Coast of Tunisia". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56: 766-773.
- Heiny, JS; Tate, CM.** 1997. "Concentration, distribution, and comparison of selected trace elements in bed sediment and fish tissue in the South Platte River basin, USA, 1992-1993". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 32, p. 246-259.
- Hernández, F; Pastor, A; Gisbert, ML; Ansuategui, J; Serrano, R.** 1992. "Biomonitoring of heavy metal distribution in the western Mediterranean Area of Spain". *Marine Pollution Bulletin*, vol 24, nº 10: 512-515.
- Hodson, PV.** 1976. "Delta-amino levulinic acid dehydratase activity of fish blood as an indicator of a harmful exposure to lead". *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 268-271.
- Hodson, PV.** 1988. "The effect of metal metabolism on uptake, disposition and toxicity in fish". *Aquatic Toxicology*, 11: 3-18.
- Hodson, PV; Blunt, BR; Spry, DJ.** 1978. "Chronic toxicity of water-borne and dietary lead to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Lake Ontario water". *Water Res.*, 12 (10): 869-878.
- Hodson, PV; Hilton, JW; Blunt, BR; Slinger, SJ.** 1980. "Effects of dietary ascorbic acid on chronic lead toxicity to young rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 170- 176.
- Hodson, PV; Sprague, JB.** 1975. "Temperature-induced changes in acute toxicity of zinc to Atlantic salmon (*salmo salar*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 32:1.
- Hogstrand, C; Gassman, NJ; Popova, B; Wood, CM; Walsh, PJ.** 1996. "The physiology of massive zinc accumulation in the liver of female squirlfish and its relationship to reproduction". *The Journal of Experimental Biology* 199: 2543-2554.
- Holcombe, GW; Benoit, DA; Leonard, EN; McKim, JM.** 1976. "Long-term effects of lead exposure on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*)". *J. Fish. Res. Board Can.*, 33 (8); 1731-1741.
- Hollis, L; Burnison, K; Playle, RC.** 1996. "Does the age of metal-dissolved organic carbon complexes influence binding of metals to fish gills?". *Aquatic Toxicology* 35: 253-264. Bibliografía 318
- Hollis, L; Muench, L; Playle, RC.** 1997. "Influence of dissolved organic matter on copper binding, and calcium on cadmium binding, by gills of rainbow trout". *Journal of Fish Biology* 50: 703-720.
- Howarth, RS y Sprague, JB.** 1978. "Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH". *Water Res.*, 12; 455-462.
- Hughes JS.** 1970. "Tolerance of striped bass, morone saxatilis (walbaum), larvae and fingerlings to nine chemicals used in pond culture" in. *proceedings of the 24th ann. conf, SE assoc of game and fish commissioners, ed columbia* 431-438.
- Hughes, GM y Nemcsók, J.** 1988. "Effects of low pH alone and combined with copper sulphate on blood parameters of Rainbow Trout". *Environmental Pollution* 55; 89-95.
- IPCS (1988) Environmental Health Criteria 61, Chromium. WHO. Geneva.**

- Jones, JRE.** 1938. "The relative toxicity of salts of lead, zinc, and copper to the stickleback". *J. Exp. Biol.*, 15: 394-407.
- Jones, JRE.** 1948. "A further study of the reactions of fish to toxic solutions". *J. Exp. Biol.*, 25: 22.
- Kimbrough, R.D. & Jensen, A.A. (Eds.)** Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related -products. Publ: Elsevier; p47-69
- Kayser, R.; Sterling, D.** 1982. "Intermedia Priority Pollutant Guidance Documents". *Viviani (eds.)*. Washington, DC: U.S.Environmental Protection Agency, July 1982., p. 2-5.
- Kidwell, JM; Phillips, LJ; Birchard, GF.** 1995. "Comparative analysis of contaminant levels in bottom feeding and predatory fish using the National Biomonitoring Program data". *Bull. Environ.Contam. Toxicol.* 54:919-923.
- Kiffney, PM; Clements, WH.** 1993. "Bioaccumulation of heavy metals by benthic invertebrates at the Arkansas River, Colorado". *Environ Toxicol Chem* 12 (8): 1507-1517.
- Klerks, PL; Lentz, SA.** 1998. "Resistance to lead and zinc in the western mosquitofish *Gambusia affinis* inhabiting contaminated Bayou Trepagnier". *Ecotoxicology* 7: 11-17.
- Labat, R; Pequignot, J; Chatelet, A.** 1974. "Toxic action of copper on the gills of carp (*Cyprinus carpio*)". *Ann Limnol*; 10 (1): 109-114.
- Lam, DL; Ko, PW; Wong, JK; Chan, KM.** 1998. "Metal toxicity and metallothionein gene expression studies in Common Carp and Tilapia". *Marine Environmental Research*, vol 46, n°1-5, pp. 563-566.
- Lemus, MJ; Chung, KS.** 1999. Effect of temperature on Copper toxicity, accumulation and purification in tropical fish juveniles *Petenia Karussii* (Pisces:Cichilidae). *Caribbean Journal of Science*, vol 35, n° 1-2: 64-69.
- Livonen, P; Piepponen, S; Verta, M.** 1992. "Factors affecting trace-metal bioaccumulation in Finnish headwater lakes". *Environmental Pollution* 78: 87-95.
- López, NI, Borrás, G; Vallespinos, F.** 1995. "Effect of heavy metals on enzymatic degradation of organic matter in sediments off Catalonia (Northeastern Spain)". *Scientia Marina*; 59 (2):149-154.
- Manny, BA; Nichols, SJ; Schloesser, DW.** 1991. "Heavy metals in aquatic macrophytes drifting in a large river". *Hydrobiologia* 219: 333-344.
- McElroy, AD; Chiu, SY; Nebgen, JW; Aleti, A; Vadegrift, AE.** 1975. "Water pollution from nonpoint sources". *Water Res.*, 9: 675.
- Mckim, J; Schmieder, P y Veith, G.** 1985. "Absorption dynamics of organic chemical transport across trout gills as related to octanol-water partition coefficient". *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 77: 1.
- Merck.** 1989. "The Merck Index". 11 th Ed., S. Budavari. Rahway.
- Miles, CJ; Pfeuffer, RJ.** 1997. "Pesticides in canals of South Florida". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32: 337-345.
- Miller, MA.** 1994. "Organochlorine concentration dynamics in Lake Michigan Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 367-372.
- Miller, PA; Munkittrick, KR; Dixon, DG.** 1992. "Relationship between concentrations of copper and zinc in water, sediment, benthic invertebrates, and tissues of white sucker (*Catostomous commersoni*) at metal-contaminated sites". *Can. J. Fish. Aquat. Scil.* 49: 978-984.



- Miller, TG y Mackay, WC.** 1980. "The effects of hardness, alkalinity and pH of test water to the toxicity of copper to rainbow trout (*Salmo gairdneri*)". *Water Research*, 14; 129-133.
- Monod, G; Keck, G.** 1972. "PCBs in Lake Geneva (Lake Lemán) fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 570.
- Morel, FMM y Hering, JG.** 1993. "Principles and Applications of Aquatic Chemistry". *John Wiley and Sons, New York, 588pp.*
- Muramoto, S.** 1980. "Effect of complexants (EDTA, NTA and DTPA) on the exposure to high concentrations of cadmium, copper, zinc and lead". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 25: 941-946.
- Murphy, BR; Atchison, GJ; McIntosh, AW.** 1978. "Cadmium and zinc content of fish from an industrially contaminated lake". *J. Fish Biol.* 13: 327-335.
- Murphy, PG.** 1970. "Effects of salinity on uptake of DDT, DDE and DDD by fish". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 5: 404.
- Murphy, PG y Murphy, JV.** 1971. "Correlation between respiration and direct uptake of DDT in the mosquito-fish *Gambusia affinis*". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 581.
- Nemcsok, J; Boross, L.** 1982. "Comparative studies on the sensitivity of different fish species to metal pollution". *ACTA BIOL ACAD SCI HUNG* 33 (1): 23-7.
- Nriagu, JO; Pacyna, JM.** 1998. "Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals". *Nature* 333: 134-139.
- Olsson, P; Larsson, A; Maage, A; Haux, C; Bonham, K; Zafarullah, M; Gedamu, .** 1989. "Induction of metallothionein synthesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, during long term exposure to waterborne cadmium". *Fish Physiol Biochem* 6: 221-229.
- Pain, DJ.** 1995. "Lead in the Environment", cap 16 del libro "Handbook of Ecotoxicology" aut. David J. Hoffman, Barnett A. Rattner, G. Allen Burton, Jr y John Cairns, Jr. CRC press, Inc..
- Pardo, R; Barrado, E; Arranz, A; Pérez, JM; Vega, M.** 1989. "Levels and speciation of heavy metals in waters of Valladolid". *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, vol. 37, pp 117-123.
- Patric, FM; Loutit, M.** 1978. "Passage of metals to freshwater fish from their food". *Water Res* 12: 395-398.
- Perkins, EJ; Griffin, B; Hobbs, M; Gollon, J; Woldord, L; Schlenk, D.** 1997. "Sexual differences in mortality and sublethal stress in channel catfish following a 10 week exposure to copper sulfate". *Aquatic toxicology* 37: 327-339.
- Pickering, I; Carle, DO; Pilli, A; Willingham, T; Lazorchak, JM.** 1989. "Effect of pollution on freshwater organisms". *J. WPCF* 61: 998-1041.
- Playle, RC; Dixon, G y Burnison, K.** 1993. "Copper and Cadmium binding to fish gills: modification by dissolved organic carbon and synthetic ligands". *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, vol. 50.
- Rand, GM; Petrocelli, SR.** 1985. "Fundamentals of Aquatic Toxicology". *Hemisphere Publishing Company, New York, capítulo 13, pgs 374-415.*
- Ricard, AC; Daniel, C; Anderson, P; Hontela, A.** 1998. "Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 377-381.

- Robinson, J; Avenant-Oldewage, A.** 1997. "Chromium, copper, iron and manganese bioaccumulation in some organs and tissues of *Oreochromis mossambicus* from the lower Olifants River, inside the Kruger National Park". *Water SA*, vol 23, n<sup>o</sup>4: 387-403.
- Roch, J; Maly, EJ.** 1979. "Relationship of cadmium-induced hypocalcemia with mortality in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and the influence of temperature on toxicity". *J. Fish. Res. Board Can.*, 36:1297.
- Roch, M; McCarter, JA.** 1984. "Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Exposed to an artificial mixture of zinc, copper and cadmium". *Comp. Biochem. Physiol.* 77C; 71-78.
- Roch, M; McCarter, JA; Matheson, AT; Clark, MJK; Olafson, RW.** 1982. "Hepatic metallothionein in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as an indication of metal pollution in the Campbell River system". *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 39: 1596-1601.
- Rock, M y McCarter, JA.** 1984. "Hepatic metallothionein production and resistance to heavy metals by rainbow trout (*salmo gairdneri*).II. Held in a seriee of contaminated lakes". *Comp.Biochem. Physiol.* 71, n<sup>o</sup>1, pp 77-82.
- Roncero, V; Durán, E; Soler, F; Masot, J; Gómez, L.** 1992. "Morphometric, Structural, and Ultrastructural Studies of Tench (*Tinca tinca* L.) Hepatocytes after Copper Sulfate Administration". *Environmental Research*, 57, 45-58.
- Roncero, V; Vecente, JA; Redondo, E; Gazquez, A; Durán, E.** 1990. "Experimental lead nitrate poisoning: Microscopic and ultrastructural study of the gills of Tench (*Tinca tinca*, L)". *Environmental Health Perspectives*, vol 8: 137-144.
- Sadiq, M.** 1992. "Environmental science and pollution control series vol. 1. toxic metal chemistry in marine environments". vii+390p. *Marcel Dekker, inc.*
- Sastry, KV; Gupta, PK.** 1978. "Alterations in the activity of some digestive enzymes of *Channa punctatus* exposed to lead nitrate". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 549-555.
- Scheuhammer, AM; Norris, SL.** 1996. "The ecotoxicology of lead shot and lead fishing weights". *Ecotoxicology* 5: 279-295.
- Schulz-Baldes, M; Rehm, E; Prause, B.** 1983. "The impact of complexed heavy metals upon a wadden sea environment as tested by field experiments with the bremerhaven caisson". *Water Sci Technol* 18 (4-5): 346.
- Shaffi, SA.** 1979. "Lead toxicity, biochemical and physiological imbalance in nine freshwater lelosts". *Toxicol. Lett.*, 4: 155-161.
- Shaffi, SA; Dubey, RP.** 1989. "DDT toxicity: Variations in tissue non-specific phosphomonoesterases and gluconeogenic enzymes in three teleost". *Acta Physiol. Hung.* 74: 57-62.
- Shen, L; Lam, KL; Ko, PW; Chan, KM.** 1998. "Metal concentrations and analysis of metal binding protein fractions from the liver of *Tilapia* collected from Shing Mun River". *Marine Environmental Research*, vol 46, n<sup>o</sup>1-5, pp. 597-600.
- Skidmore, JF.** 1970. "Respiration and osmoregulation in rainbow trout with gills damaged by zinc sulphate". *J. Exptl. Biol.*; 52(2), 481-94.
- Soengas, JL; Agra-Lago, MJ; Carballo, B; Andrés, MD; Veira, JAR.** 1996. "Effect of an acute exposure to sublethal concentrations of Cadmium on liver carbohydrate metabolism of Atlantic Salmon (*Salmo salar*)". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57: 625-631.

- Somero, GN; Chow, TJ; Yancey, PH; Snyder, CB.** 1977. "Lead accumulation rates in tissues of the estuarine teleost fish, *Gillichthys mirabilis*: salinity and temperature effects". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 337-348.
- Spear, PA.** 1981. "Zinc in the aquatic environment: Chemistry, distribution and toxicology". *Natl Res Counc Can Assoc Comm Sci Criter Environ Qual Publ*; 0 (17589): 1-145.
- Srivastava, AK; Mishra, S.** 1979. "Blood dyscrasia in a teleost, *Colisa fasciatus* after acute exposure to sublethal concentrations of lead". *J. Fish Biol.* 14 (2): 199-204.
- Stubblefield, WA; Steadman, BL; La Point, TW; Bergman, HL.** 1999. "Acclimation-induced changes in the toxicity of zinc and cadmium to rainbow trout". *Environmental Toxicology and Chemistry*; 18 (12): 2875-2881.
- Sullivan JF; Jetton MM; Hahn HKJ; Burch, R.** 1980. "Enhanced lipid peroxidation in liver microsome of zinc deficient rats". *Am J Clin Nutr* 33: 51-56.
- Suresh, A; Sivaramakrishna, B, Victoriamma, PC, Radhakrishnaiah, K.** 1992. "Comparative study on the inhibition of acetylcholinesterase activity in the freshwater fish *Cyprinus carpio* by mercury and zinc". *BIOCHEM INT*; 26 (2): 367-375.
- Tabche, LM; Martinez, CM; Sánchez-Hidalgo, E.** 1990. "Comparative study of toxic lead effect on gill and hemoglobin of tilapia fish". *J. Appl. Toxicol.*, 10 (3): 193-196.
- Tariq, J; Ashraf, M; Jaffar, M; Afzal, M.** 1996. "Pollution status of the Indus River, Pakistan, through heavy metal and macronutrient contents of fish, sediment and water". *Wat. Res. Vol. 30, nº 6*: 1337-1344.
- Tate DJ; Miceli MV; Newsome DA.** 1999. "Zinc protects against oxidative damage in cultured human retinal pigment epithelial cells". *Free Radic Bio. Med* 26: 704-713.
- Tapia J.** "Evaluación de la contaminación por cromo en un sistema fluvial de Chile Central: Una propuesta para la disminución en su origen". Tesis Doctoral, Centro EULA, Universidad de Concepción, Concepción, Chile (1997).
- Thomas DW.** 1991. in "Metals and Their Compounds in the Environment". *Merian E Ed. Weinheim, Fed Rep Ger: VCH*, pp. 1309-42.
- Thomas, P; Wofford, HW.** 1993. "Effects of cadmium and Aroclor 1254 on lipid peroxidation, glutathione peroxidase activity, and selected antioxidants in Atlantic croaker tissues". *Aquatic Toxicology*, 27: 159-178.
- Thompson, KW; Hendricks, AC; Cairns, JJr.** 1980. "Acute toxicity of Zinc and Copper singly and in combination to the Bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 25:122-129.
- Torreblanca, A; Del Ramo, J; Díaz-Mayans, J.** 1989. "Gill ATPase activity in *Procambarus clarkii* as an indicator of heavy metal pollution". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 829-834.
- Tsai, C; Chang, K.** 1981. "Effect of sex and size on copper susceptibility of the common guppy, *Lebistes reticulatus* (Peter)". *J. Fish Biol.*, 19: 683-689.
- USPHS (1990).** Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Public Health Service: December 1990, 231p.
- Versteeg, DJ; Giesy, JP.** 1986. "The histological and biochemical effects of cadmium exposure in the Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*)". *Ecotoxicology and environmental safety* 11, 31-43.

- Vinikour, WS; Goldstein, RM; Anderson, RV.** 1980. "Bioconcentration patterns of Zinc, Copper, Cadmium and Lead in selected fish species from the Fox River, Illinois". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 727-734.
- World Health Organization.** 1992. "Environmental Health Criteria 134. Cadmium". Geneva, Switzerland.
- World Health Organization (WHO).** 1984. "Guidelines for drinking water quality. II". 190-218.
- World Health Organization (WHO).** 1991. "Lindane". *Environmental Health Criteria 124, IPCS, Geneva.*
- World Health Organization (WHO).** 1992. "Environmental Health Criteria 135: Cadmium - Environmental Aspects pp 30".
- World Health Organization Geneva (WHO).** 1989. "Lead-Environmental Aspects". *Environmental Health Criteria 85.*
- Wren, CD; Harris, S; Harttrup, N.** 1995. "Ecotoxicology of Mercury and Cadmium" cap 17 del libro "Handbook of Ecotoxicology" aut. David J. Hoffman, Barnett A. Rattner, G. Allen Burton, Jr y Joh Xu, J n Cairns, Jr. CRC press, Inc.
- Ybáñez, N; Montoro, R; Catalá, R; Cervera, ML.** 1987. "Determinación de cadmio, cobre, plomo y cinc a niveles de  $\mu/L$  en aguas potables, por espectrofotometría de absorción atómica con llama". *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 27 (2).
- Young, RG; John, L St; Lisk, DJ.** 1971. "Degradation of DDT by goldfis". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 6: 351.