



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

EFECTOS ECOTÓXICOS DE METALES PESADOS
SOBRE *Daphnia magna* Y *Paracheirodon innesi*
EN UN RÍO DE LA AMAZONÍA PERUANAEcotoxic Effects of Heavy Metals on *Daphnia magna* and
Paracheirodon innesi in an Amazonian Peruvian RiverEsther MÉNIZ-OSHIRO¹ , José Alberto IANNAcone OLÍVER^{1,2*} ¹ Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Científica del Sur, Defensores del Morro, Villa El Salvador, Lima, Perú, haru.321@hotmail.com² Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal, Jr. Rio Chepén 290, El Agustino, Lima, Perú, joseiannacone@gmail.com

* For correspondence: joseiannacone@gmail.com

Recibido: 28 de enero de 2021. Revisado: 20 de julio de 2022. Aceptado: 12 de septiembre de 2022

Editor asociado: Gabriel Antonio Pinilla Agudelo

Citation/ citar este artículo como: Méñiz-Oshiro, E., y Iannacone, J. (2023). Efectos ecotóxicos de metales pesados sobre *Daphnia magna* y *Paracheirodon innesi* en un río de la Amazonía peruana. *Acta Biol Colomb*, 28(3), 492-505. <https://doi.org/10.15446/abc.v28n3.100746>

RESUMEN

El río Madre de Dios, en la Amazonía del Perú, es un cuerpo de agua que recibe relaves y desechos con mercurio (Hg) vertidos por la minería aurífera artesanal, informal e ilegal. Se evaluó el efecto ecotóxico de metales pesados en agua superficial y sedimentos del río Madre de Dios sobre el microcrustáceo *Daphnia magna* y el pez *Paracheirodon innesi*, mediante la determinación del nivel de toxicidad utilizando la escala ecotóxica de Roig, basada en la concentración letal media (CL₅₀) para *D. magna* y la concentración efectiva media (CE₅₀) para el efecto subletal “nado extraño” de *P. innesi*. Se muestrearon cuatro puntos en época seca en el 2019 entre la zona del cruce con el río afluente Colorado y el puerto del distrito Boca Colorado, en Madre de Dios. Se determinaron los metales pesados en agua y sedimento, así como el pH y la conductividad eléctrica. En los cuatro puntos de muestreo el Hg en agua superficial y sedimentos no sobrepasó el Estándar de Calidad Ambiental peruano de agua de ríos de selva - Conservación del ambiente acuático (<0,0001 mg L⁻¹). Los valores de CL₅₀ en agua y sedimento en *D. magna* fueron no tóxicos. El punto con mayor toxicidad para la mortalidad y el nado extraño en *P. innesi* en agua se localizó entre la zona minera y el puerto de Boca Colorado, considerándose levemente tóxico. Se sugiere hacer un análisis de efectos ecotoxicológicos agudos y crónicos en organismos acuáticos planctónicos, bentónicos y nectónicos amazónicos.

Palabras clave: calidad ambiental, crustáceo, mercurio, pez, sedimentos

ABSTRACT

The Madre de Dios River, in the Peruvian Amazon, is a body of water that receives tailings and waste containing mercury (Hg) discharged by artisanal, informal, and illegal gold mining. The ecotoxic effect of heavy metals in surface water and sediments of the Madre de Dios River was evaluated on the microcrustacean *Daphnia magna* and the fish *Paracheirodon innesi*, in surface water and sediments by determining the toxicity level with the Roig ecotoxic scale, based on at the median lethal concentration (LC₅₀) for *D. magna* and with the median effective concentration (EC₅₀) for the sublethal effect “strange swimming” of *P. innesi*. Four points were sampled in the dry season in 2019 between the area of the crossing with the tributary Colorado River and the port of the Boca Colorado district, in Madre de Dios. Heavy metals were determined in water and sediment, additionally evaluating the pH and electrical conductivity. At the four sampling points, the Hg in surface water and sediments did not exceed the Peruvian Environmental Quality Standard for water from jungle rivers - Conservation of the aquatic environment (<0.0001 mg L⁻¹). LC₅₀ values in water and sediment in *D. magna* were non-toxic. The point with the highest toxicity for mortality and strange swimming in *P. innesi* in water

was between the mining area and the port of Boca Colorado and it is considered slightly toxic. An analysis of acute and chronic ecotoxicological effects in Amazon aquatic planktonic, benthic and nektonic organisms is suggested.

Keywords: crustacean, environmental quality, fish, mercury, sediments

INTRODUCCIÓN

Perú es uno de los mayores productores de oro y se encuentra posicionado globalmente en el puesto séptimo; asimismo, es el mayor productor en Latinoamérica, dado que procesó 130 MT en 2019 (Pistilli, 2020). La expansión rápida de las zonas mineras coincide con el incremento de personas dedicadas a esta actividad, estimándose que existen más de 60,000 mineros en la región (Martínez et al., 2018). En la pequeña minería y minería artesanal mezclan el mercurio (Hg) líquido con los sedimentos del río o suelos para capturar y amalgamar partículas de oro fino aluvial (Ashe, 2012).

Como la mayoría de los contaminantes en los sistemas acuáticos, el mercurio (Hg), genera preocupación por su toxicidad y por la biomagnificación por medio de la cadena trófica (Panduro et al., 2020). El mercurio ocasiona en los peces daño de la cobertura de las branquias, aumento del movimiento respiratorio, disminución de equilibrio e inacción consecutiva, seguido de la muerte (Vargas-Licon y Marrugo-Negrete, 2019). La exposición al Hg amenaza la salud humana y ambiental a través del consumo de peces contaminados (Rice et al., 2014; Cruz-Esquivé y Marrugo-Negrete, 2022), incluyendo a aquellas comunidades cercanas a las actividades mineras auríferas (Olivero-Verbel et al., 2016) en Madre de Dios en Perú. Poblaciones como la comunidad nativa de la Reserva Comunal Amarakaeri son altamente susceptibles a la contaminación por Hg (INRENA, 2008), pues se estima que la alimentación de la población amazónica peruana, depende entre un 39 a 78 % de la pesca según diferentes estimadores de captura total anual (Sirén, 2021). Los estudios en Madre de Dios han detectado Hg en cabello humano y en peces comerciales en zonas con presencia de minería artesanal (Diringer et al., 2015).

Los cambios en la mortalidad, en el crecimiento, en la reproducción y en la conducta de las especies bioindicadoras en los ecosistemas acuáticos impactados por contaminantes, pueden ser utilizadas con fines normativos ante un impacto negativo al ambiente (Terneus-Jácome y Yáñez, 2018; Príncipe-Morillo et al., 2022; García-Alcalde et al., 2023).

Daphnia magna (Strauss 1820) (Daphniidae), conocida como “pulga de agua”, es un crustáceo acuático bastante utilizado en ensayos ecotoxicológicos para evaluar los efectos nocivos de sustancias individuales o mezclas complejas (Alegre et al., 2018; Caja-Molina e Iannacone, 2021; Dellafreda e Iannacone, 2021). *Paracheirodon innesi* (Myers 1936) (Characidae), conocido comúnmente como Neón Tetra, el cual está disponible a la venta en la acuariofilia (Kucharczyk et al., 2010), se ha empleado para estudios ecotoxicológicos con Hg y otras sustancias tóxicas

en condiciones de laboratorio (Iannacone et al., 2007a; Tomaila e Iannacone, 2018).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto ecotóxico del Hg y de ocho metales pesados [Arsénico (As), Cadmio (Cd), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Hierro (Fe), Plomo (Pb), Selenio (Se) y Zinc (Zn)] en agua superficial y sedimentos por la minería en el río Madre de Dios, Perú utilizando como bioindicadores *D. magna* y *P. innesi*.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO DE AGUA Y SEDIMENTOS

El área de estudio comprende el río Madre de Dios, a la altura de la desembocadura del río afluente Colorado (12°36'22" S, 70°24'01" W, 237 msnm), en el departamento de Madre de Dios, Perú, siendo en este afluente donde se efectúan actividades de minería ilegal e informal. Ambos ríos han sido afectados en su calidad del agua por la actividad minera, y a su vez se encuentran en la zona colindante a la Reserva Comunal Amarakaeri (SERNANP, 2016). Se establecieron cuatro puntos de muestreo de agua superficial (AS) y sedimento (S): AS-01 y S-01 (inicio de desembocadura del afluente Colorado para agua superficial y en el río Madre de Dios antes de la desembocadura del río Colorado para sedimento), AS-02 y S-02 (lugar con aparente mayor caudal del cruce de afluente Colorado con el río Madre de Dios), AS-03 y S-03 (punto intermedio entre la desembocadura del río Colorado y el puerto del distrito Boca Colorado) y AS-04 y S-04 (punto más cercano al puerto del distrito Boca Colorado). El muestreo se realizó el día 1 de junio del 2019 en temporada seca (abril – septiembre), período en el que se esperaba encontrar mayor concentración de elementos potencialmente tóxicos (Olguín et al., 2010) (Fig. 1).

Se utilizaron botellas plásticas de 1 L de capacidad para la toma de muestras del agua superficial y se colectaron en total 40 L por punto de muestreo. Los sedimentos se obtuvieron con un cucharón metálico con el cual se extrajeron cuatro kg por punto de muestreo, que se colocaron en bolsas resellables de 26,8 x 27,9 cm (Alegre et al., 2018).

Las muestras de agua y sedimento se rotularon, se refrigeraron con gel, se guardaron en neveras tipo “cooler” y se llevaron al laboratorio para el análisis de barrido de nueve metales (Hg, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Pb, Se y Zn) con el método ICP-MS (USEPA Method 200.8 revisión 5.4. 1999; USEPA Method 3050B rev. 2 1996; USEPA Method 6020A rev. 1 2014). De igual forma, se usaron las muestras de agua y de sedimento elutriado para realizar bioensayos ecotoxicológicos en condiciones de laboratorio sobre *D. magna* y *P. innesi*.

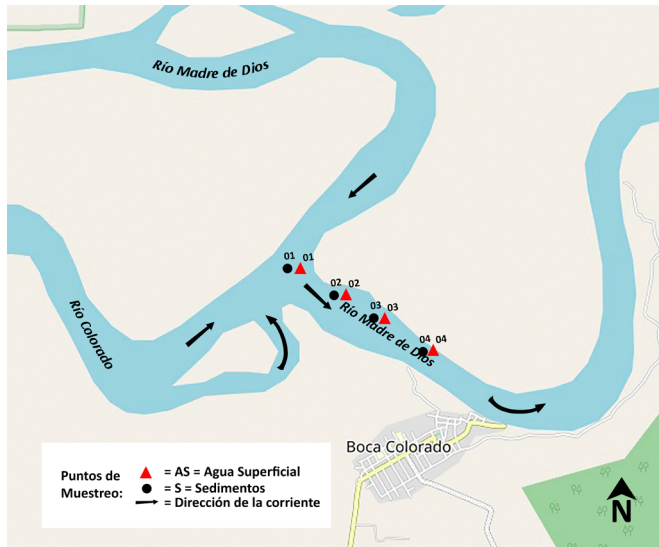


Figura 1. Mapa de ubicación de los puntos de muestreo de agua superficial y de sedimentos en el departamento de Madre de Dios, Perú.

MEDICIÓN DE PARÁMETROS Y PREPARACIÓN DE BIOINDICADORES

Para la caracterización de las muestras de agua superficial y de sedimento *in situ*, se midieron las variables pH y conductividad eléctrica con una sonda multiparámetro marca Handylab 680 FK del fabricante SI Analytics GmbH. Posteriormente, se compararon las variables fisicoquímicas y los valores de los nueve metales pesados con los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para agua superficial de categoría IV: Conservación del ambiente acuático, subcategoría: ríos de selva, determinados en el Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM (Ministerio del Ambiente [MINAM], 2017) y, los sedimentos con los ISQG (Interim Sediment Quality Guidelines) (Canadian Environmental Quality Guidelines [CCME], 1995). Para la obtención de los elutriados, los sedimentos se homogenizaron con anticipación y posteriormente se mezclaron con agua embotellada en una proporción de 1 a 4; después se homogenizó el sedimento con agua durante 1 h y, por último, se permitió sedimentar la mezcla por 24 h con el motivo de separar la fase líquida de los sedimentos. En el sobrenadante se midieron las variables fisicoquímicas y realizaron los bioensayos (USEPA, 1998).

Daphnia magna

Las pulgas de agua se obtuvieron del acuario Rokasd, Iquitos, Perú. En el laboratorio, los organismos se colocaron en una pecera de cinco litros por un tiempo de aclimatación de cuatro semanas. A continuación, se separaron las pulgas de agua oviplenas y se colocaron en otro acuario con agua de grifo de clorinada y agua embotellada (1:1) ciclada por

una semana, con aireación con piedras difusoras. Las pulgas de agua se alimentaron con la microalga *Arthrospira platensis* seca, reposada e hiperoxigenada durante 24 h. Los cultivos se mantuvieron a una temperatura de 21 ± 2 °C y con un fotoperiodo aproximado de 12L/12O h (Alegre et al., 2018).

Paracheirodon Innesi

Los peces se adquirieron en el acuario Rokasd, que cuentan con el permiso para la comercialización de *P. innesi* por la Dirección Regional de la Producción - Loreto, Perú. En el laboratorio, los peces se mantuvieron en acuarios ciclados, con filtros y calentadores (26 - 28 °C). En este periodo, con una regularidad de tres días, se ejecutaron intercambios fragmentados del 30 % del volumen de los acuarios con agua de osmosis inversa (baja en sales/iones). Igualmente, se mantuvo a un fotoperiodo de 12L/12° h, y los peces se alimentaron cada día con Nutrafin Max®. Los individuos se mantuvieron en el laboratorio por un periodo mínimo de un mes antes de utilizarse en los bioensayos, con los mismos cuidados empleados en el periodo de aislamiento (OECD, 2019).

BIOENSAYOS ECOTOXICOLÓGICOS

Se evaluaron los valores de pH y conductividad eléctrica al inicio (0 h) y al final de los bioensayos (48 h para *D. magna* y 96 h para *P. innesi*), para cada muestra. Los protocolos para los bioensayos ecotoxicológicos para *D. magna* y para *P. innesi* mostrados a continuación fueron aprobados por el Comité de Ética en Animales y Biodiversidad de la Universidad Científica del Sur, Lima, Perú (Constancia N° 22-CIEI-AB-CIENTIFICA-2019).

Daphnia magna

Para la prueba de toxicidad aguda con el agua superficial y con el sobrenadante de los sedimentos elutriados, se evaluaron cinco concentraciones diluidas con agua embotellada aplicando un factor de dilución de 0,5 en orden decreciente (100; 50; 25; 12,5 y 6,25 %), más el control, con cuatro repeticiones para cada punto de muestreo. Se colocaron en cada recipiente de 60 mL, diez individuos con menos de 24 h de nacidos. La temperatura fue de 20 a 22 °C, y el fotoperiodo de 11L/13O h. La humedad relativa (HR) del laboratorio estuvo entre el 75 y el 85 %, y la iluminación en el laboratorio se hizo con luz fluorescente blanco - frío (Iannacone et al., 2007b). Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24 y 48 h de exposición, para lo cual se consideraron muertos aquellos organismos que no presentaron actividad por 15 s de exposición. Se realizó un movimiento circular del envase para comprobar la mortalidad de los individuos que se encontraban en el fondo de los envases, debido a que algunos pueden estar inmóviles y moverse con naturalidad al percibir este movimiento (Iannacone et al., 2007b).

Paracheirodon innesi

Para la prueba de toxicidad con el agua superficial basada en la mortalidad (efecto letal) y en el nado extraño (efecto subletal), se analizaron cinco concentraciones, diluidas con el agua del acuario, aplicando un factor de dilución de 0,5 en orden decreciente (100; 50; 25; 12,5 y 6,25 %), más el control, con cuatro repeticiones para cada punto de muestreo. Para los peces no se realizaron ensayos de toxicidad letal o subletal con el sobrenadante de los sedimentos elutriados.

Se colocaron en cada recipiente de 500 mL, diez peces juveniles seleccionados aleatoriamente, con un promedio de longitud total de $1,97 \pm 0,12$ cm y con un promedio de peso húmedo de $71,3 \pm 10,8$ mg. La duración de los ensayos con Neón Tetra fue de 96 h de exposición. La temperatura fue de 26 a 29 °C y el fotoperiodo de 12L/12O h. Con la ayuda de un estilete y con una regularidad de 24 h, se estimaron dos efectos: uno letal y uno subletal. Se conceptuó como efecto letal (muerte) si al tocar el pez por 10 s no se observó movimiento alguno. El efecto subletal fue el nado extraño, el cual se consideró si el pez realizó actividades anormales, como trasladarse despacio solo en la superficie o de forma diagonal. Los individuos muertos se apartaron al concluir la lectura diaria para que su descomposición no originara efectos desfavorables sobre los demás individuos, como lo recomiendan Tomaila e Iannacone (2018) y OECD (2019).

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

La CL_{50} , que es la concentración tóxica que causa la mortalidad al 50 % de los organismos, y la CE_{50} , que es la concentración que causa el 50 % de un determinado efecto (Repetto y Sanz, 1993), se calcularon con el programa SPSS versión 2020 (Stockemer, 2019). El valor de NOEC (concentración de efecto no observado) y del LOEC (concentración mínima de efecto observado), se determinaron a través del análisis estadístico ANOVA, seguido de la prueba de Tukey, con el empleo del programa SPSS versión 2020. El nivel de ecotoxicidad sobre *D. magna* con base en la CL_{50} para el agua superficial y el sedimento elutriado, y para *P. innesi* con base en la CL_{50} y la CE_{50} para el agua, se evaluaron según la escala ecotóxica (ET) de Roig et al. (2015), la cual clasifica las sustancias probadas como: 0 = “no tóxica” (>100 %); 1 = “ligeramente tóxica” (61-100 %); 2 = “marginamente tóxica” (21-60 %); 3 = “moderadamente tóxica” (11-20 %) y 4 = “altamente tóxica” (<10 %).

RESULTADOS

PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y DE METALES PESADOS

De los cuatro puntos de muestreo de agua superficial evaluados en el río Madre de Dios, se encontraron dos

Tabla 1. Variables fisicoquímicas (pH y conductividad eléctrica) y concentración de nueve metales pesados del agua superficial y del sedimento del río Madre de Dios, Perú.

Punto de muestreo		AS-01	AS-02	AS-03	AS-04	ISQG	S-01	S-02	S-03	S-04		
Tipo de muestra		Agua superficial					Sedimentos					
Variables												
pH	unidad	6,5-9,0	6,21	7,02	5,45	5,97						
Conductividad	$\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$	1000	294	279	216	301						
Metales totales	LD	(mg·L ⁻¹)					LD	(mg·Kg ⁻¹)				
Arsénico (As)	0,0002	0,15	0,0051	0,0032	0,0041	0,0031	0,27	5,9	13,79	14,38	14,81	15,24
Cadmio (Cd)	0,0001	0,00025	<0,0002	<0,0002	<0,0002	<0,0002	0,03	0,6	<0,05	<0,05	0,2	0,2
Cobre (Cu)	0,0001	0,1	0,0054	0,0065	0,0068	0,006	0,13	35,7	19,58	21,18	36,82	36,09
Cromo (Cr)	0,0002		0,0034	0,0042	0,004	0,0046	0,04	37,3	12,79	10,59	18,81	21,05
Hierro (Fe)	0,0015		4,5403	5,7374	5,2784	5,6744	1,17		23019,58	25230,52	3511,24	38044,51
Mercurio (Hg)	0,0001	0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,02	0,17	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Plomo (Pb)	0,0001	0,0025	0,0059	0,0061	0,0053	0,0049	0,3	35	9,19	9,79	15,81	17,64
Selenio (Se)	0,0001	0,005	0,0014	0,0009	0,0009	0,0014	0,06		1,2	1,4	0,6	1
Zinc (Zn)	0,0001	0,12	0,0164	0,0162	0,0198	0,0281	0,33	123	61,55	72,51	94,64	100,44

LD: Límite de detección. ECA – Agua está basada como Categoría 4, Ríos de Selva. ISQG = (Interim Sediment Quality Guidelines) (Canadian Environmental Quality Guidelines [CCME], 2006).

Tabla 2. Valores de pH y conductividad eléctrica registrados en los bioensayos de laboratorio con el Neón Tetra *Paracheirodon innesi* y con la pulga de agua *Daphnia magna* con las muestras de agua del río Madre de Dios, Perú.

Punto de muestra	Análisis	<i>Paracheirodon innesi</i>				<i>Daphnia magna</i>			
		pH		CE ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$)		pH		CE ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$)	
		0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	48 h	0 h	48 h
AS-01	Prom	6,58	6,57	377,83	379,00	7,59	7,67	713,17	713,83
	DE	0,20	0,20	54,07	53,89	0,69	0,09	218,61	218,23
AS-02	Prom	6,85	7,12	366,83	367,33	7,72	7,71	729,17	729,33
	DE	0,10	0,39	62,07	62,02	0,36	0,36	226,97	227,08
AS-03	Prom	6,33	6,30	339,67	341,50	6,69	6,70	707,33	707,83
	DE	0,47	0,47	85,67	86,09	0,86	0,87	249,18	248,88
AS-04	Prom	6,55	6,54	380,00	381,00	7,10	7,11	719,33	719,67
	DE	0,30	0,29	51,60	51,29	0,70	0,69	218,05	217,78

AS: Agua Superficial; Prom: Promedio; DE: Desviación estándar; CE: Conductividad eléctrica.

parámetros que exceden el ECA de agua superficial: el Pb en los cuatro puntos y el pH en tres puntos. En los sedimentos, se halló que dos metales pesados exceden los estándares de la Guía ISQG en sedimento: As y Cu. Sin embargo, el Hg no superó los ECA de agua superficial y de sedimentos en ninguna de las muestras evaluadas (Tabla 1).

PH Y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA EN LOS BIOENSAYOS ECOTOXICOLÓGICOS

Los valores de pH y de conductividad eléctrica (CE) mostraron poca variación en las muestras de agua superficial, al iniciar y al terminar los bioensayos ecotoxicológicos (Tabla 2). En las muestras de agua superficial, el pH y la CE fueron más bajos en el punto AS-03 y más altos para el AS-02 para los ensayos con Neón Tetra y con pulgas de agua.

EFFECTOS ECOTÓXICOS DE LAS MUESTRAS DE AGUA SUPERFICIAL Y SEDIMENTOS

Daphnia magna

Los bioensayos ecotoxicológicos con las cuatro muestras de agua superficial (100; 50; 25; 12,5 y 6,25 %), y con los cuatro sedimentos elutriados (100; 50; 25; 12,5 y 6,25 %) a 24 y 48 h de exposición no generaron ningún efecto letal en las pulgas de agua (NOEC = 100 %; LOEC > 100 %; CL_{50} > 100 %). No se observó efecto de las diversas concentraciones del agua superficial y del sedimento de AS-1, AS-2, AS-3 y AS-4 del río Madre de Dios sobre la mortalidad de la pulga de agua, lo que se indicó en los resultados de la prueba de Tukey (Tabla 1S). Con base en la ET de Roig a 48 h de exposición para las muestras de agua superficial y para los sedimentos elutriados, estas fueron no tóxicas (= 0).

Paracheirodon innesi

Se observaron valores de CL_{50} y CE_{50} ($CL(E)_{50}$) > a 100 % a las 24 h y 48 h de exposición al agua superficial para las respuestas letales y subletales del Neón Tetra (Tabla 3). A las 96 h de exposición para la letalidad y subletalidad se vio la siguiente secuencia, en orden decreciente de ecotoxicidad, con base en la $CL(E)_{50}$ en los sitios estudiados en el río Madre de Dios: AS-3 > AS-1 > AS-2 > AS-4. De acuerdo a los resultados de la LOEC, la letalidad y subletalidad en el Neón Tetra tuvo valores de 25 % para AS-1, AS-2 y AS-3, y de 100 % para AS-4. La Tabla 2S en Anexos muestra el efecto de las diversas concentraciones del agua superficial de AS-1, AS-2, AS-3 y AS-4 del río Madre de Dios sobre la mortalidad y nado extraño del Neón Tetra, e indica los resultados de la prueba de Tukey. Con base en la ET de Roig a 96 h de exposición, se observó para la letalidad que las muestras AS1, AS2 y AS4 se catalogaron como ligeramente tóxicas, y solo la muestra AS-3 resultó ser marginalmente tóxica. Según la ET de Roig a 96 h de exposición para la respuesta subletal de nado extraño del Neón Tetra, se catalogaron como ligeramente tóxica las muestras AS-2 y AS-4, y se determinaron como marginalmente tóxicas las muestras AS-1 y AS-3 (Tabla 3).

DISCUSIÓN

No se observaron efectos ecotóxicos del Hg y ni de los otros ocho metales pesados evaluados (As, Cd, Cu, Cr, Fe, Pb, Se y Zn) en el agua superficial y los sedimentos, sobre *D. magna*, atribuibles a la minería en el río Madre de Dios, Perú. Los bioensayos ecotoxicológicos con las muestras de agua superficial no generaron ningún efecto letal en las pulgas de agua, aunque se presentaron valores de Pb sobre el ECA. Los ensayos de toxicidad del Pb en agua sobre *D. magna* en la literatura se refieren a valores entre 0,15 y 9,48 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a 48 h de exposición (Dellafreda e Iannacone, 2021). Se ha señalado que las condiciones del ensayo de toxicidad, como

Tabla 3. Efecto del agua superficial del río Madre de Dios, Perú sobre la mortalidad y nado extraño del Neón Tetra *Paracheirodon innesi*.

Muestras	Parámetros	mortalidad (%)				nado extraño (%)			
		24	48	72	96	24	48	72	96
AS-1	NOEC	100	25	12,5	12,5	100	50	25	12,5
	LOEC	>100	50	25	25	>100	100	50	25
	CL(E) ₅₀	>100	>100	>100	75,85	>100	>100	82,02	54,93
	F	2,49	22,62	24,63	35,30	1,80	17,73	34,45	39,28
	p	0,07	<0,001	<0,001	<0,001	0,164	<0,001	<0,001	<0,001
	ET	0	0	0	1	0	0	1	2
AS-2	NOEC	50	25	12,5	12,5	50	25	12,5	12,5
	LOEC	100	50	25	25	100	50	25	25
	CL(E) ₅₀	>100	>100	95,54	77,18	>100	>100	95,21	73,5
	F	9,80	15,54	37,80	24,70	1,077	13,49	33,76	29,74
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	ET	0	0	1	1	0	0	1	1
AS-3	NOEC	50	25	12,5	12,5	50	25	12,5	12,5
	LOEC	100	50	25	25	100	50	25	25
	CL(E) ₅₀	>100	>100	73,99	50,17	>100	>100	57,64	38,46
	F	9,65	20,40	42,54	77,43	8,69	31,99	21,73	57,06
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	ET	0	0	1	2	0	0	2	2
AS-4	NOEC	100	50	50	50	100	50	50	50
	LOEC	>100	100	100	100	>100	100	100	100
	CL(E) ₅₀	>100	>100	>100	88,02	>100	>100	>100	81,21
	F	1,89	11,72	3,63	6,88	1,45	5,92	4,84	7,54
	p	0,147	<0,001	0,019	0,001	0,256	0,002	0,006	<0,001
	ET	0	0	0	1	0	0	0	1

AS: Muestras de Agua Superficial del 1-4. CL(E)₅₀ = Concentración Letal (Efectiva) media. NOEC = concentración de efecto no observado. LOEC = concentración mínima de efecto observado. F= Estadístico de Fisher del ANOVA. p= probabilidad. ET = Escala de ecotoxicidad según Roig: 0 = “no tóxico”; 1 = “ligeramente tóxico”; 2 = “marginalmente tóxico”.

el pH y la temperatura, modifican la biodisponibilidad del Pb y por ende su toxicidad en el medio acuático. De igual forma, la toxicidad del Pb puede asociarse a la variabilidad genética de cada individuo de *D. magna* y a las diferencias en las condiciones de cultivo (Tomaiilla e Iannacone, 2018; Dellafreda e Iannacone, 2021).

De manera similar, los bioensayos con los sedimentos elutriados con valores de As y Cu que sobrepasaron el ECA en varios de los puntos evaluados, no mostraron toxicidad en *D. magna*. Sin embargo, la literatura muestra que la exposición al As y su bioacumulación puede causar varios efectos adversos en los organismos acuáticos. Se ha encontrado que la CL₅₀ del As varía entre 0,25 a 9,51 mg·L⁻¹ para las pulgas de agua *D. magna*, *D. carinata*, *D. galeata* y *D. pulex* (Byeon *et al.*, 2021). Los resultados en la literatura

siguieren que la especiación del metaloide As juega un papel crítico en la toxicidad en el ambiente acuático y en su biodisponibilidad. Además de la toxicidad variable según la especiación del As en el medio acuático, las formas inorgánicas del As se asocian con una toxicidad más fuerte en comparación con las formas orgánicas. Por otra parte, el As presenta propiedades químicas y biológicas similares a las del fosfato (Byeon *et al.*, 2021). En el caso de la toxicidad del Cu con base en la CL₅₀ sobre *D. magna*, las variaciones en su toxicidad aguda están entre 0,5 y 159 ug·L⁻¹ de acuerdo a la influencia del pH, la concentración de carbono orgánico disuelto (COD), la dureza del agua y la fuente de materia orgánica disuelta (MOD) (Ryan *et al.*, 2009).

Los efectos de la intoxicación por metales pesados en peces incluyen el endurecimiento del cuerpo y el descenso de la motilidad; estos síntomas son consecutivos al daño en el balance del organismo y terminan en su caída en el fondo antes de la muerte (Tomaila e Iannacone, 2018). Para el presente caso, se encontraron efectos letales y subletales (nado extraño) en los bioensayos realizados con las muestras de agua superficial del río Madre de Dios en el pez *P. innesi*, aun cuando el análisis de metales indicó que la cantidad de Hg presente en dicho cuerpo de agua no sobrepasó el límite impuesto en el ECA de agua (MINAM, 2017). La ecotoxicidad letal y subletal observada en los peces podría deberse a que los valores de Pb en las cuatro muestras de agua superficial analizadas fueron mayores que el ECA. Los resultados del pH, que tuvo un promedio de 6,16 y mostró un registro bajo de 5,45 en el punto AS-03 (valores por debajo de lo establecido en los ECA para la Conservación del Ambiente Acuático del Perú, MINAM, 2017), indican que son aguas superficiales ligeramente ácidas, fuera del rango normal de 6,5 a 9,0. A mayor acidez del agua se induce una mayor movilidad y solubilidad de las concentraciones de los metales pesados como el Pb (Spence y Barton, 2003; Molina et al., 2010). El punto AS-03, que presentó menor pH, mostró mayor toxicidad, lo que sugiere que este factor produce un efecto en los peces debido a la mezcla de metales pesados (Shastri y Diwekar, 2008). Sin embargo, el Pb en el agua superficial, que excedió el límite impuesto en el ECA, también podría explicar los efectos letales y subletales en el Neón Tetra (Pramita et al., 2021). El Pb es un metal altamente tóxico para los animales acuáticos, especialmente para los peces (Lee et al., 2019). La CL_{50} aguda del Pb en peces oscila entre 10 y 100 $mg \cdot L^{-1}$, pero la biodisponibilidad de este metal depende de las propiedades fisicoquímicas del agua, como el pH, la alcalinidad, la dureza y el contenido de materia orgánica natural en el agua (Al-Tae et al., 2020).

La respuesta observada con las muestras de agua superficial y con los sedimentos elutriados en los dos bioindicadores acuáticos (Neón Tetra y pulgas de agua) no fue similar. El Neón Tetra, en la presente investigación, presentó una mayor sensibilidad a las muestras de agua superficial con base en la CL_{50} , en comparación con las pulgas de agua. Esto contrasta con lo registrado en la literatura científica, según la cual los organismos de agua dulce de nivel trófico inferior, como es el caso de las pulgas de agua, exhiben niveles de mayor susceptibilidad a la toxicidad por metales pesados, en comparación con los organismos de nivel trófico superior como los peces Neón Tetra (Byeon et al., 2021). De igual forma, otros investigadores muestran que existe una mayor sensibilidad en *D. magna*, en comparación con peces como *Poecilia reticulata*, ante 26 xenobióticos en el ambiente acuático (Kolarova et al., 2021). Otra investigación muestra de igual forma una mayor sensibilidad ante diferentes tóxicos en *D. magna*, en comparación con los peces (Li et al., 2018). Teixidó et al. (2020) han demostrado que *D. magna*

suele ser más sensibles que los peces, pero la toxicidad aguda en embriones de peces y en peces adultos/juveniles muestran una sensibilidad similar, por lo que concluyen que la sustitución de las pruebas de toxicidad aguda con adultos por pruebas con embriones de peces daría como resultado, en la mayoría de los casos, una clasificación basada en la toxicidad muy similar a la obtenida con las pulgas de agua. Los resultados obtenidos en esta investigación con *D. magna* y Neón Tetra sugieren que los niveles de toxicidad de las muestras de agua superficial del río Madre de Dios dependen de la especie biológica expuesta, de las características de la sustancia objetivo (que en el presente estudio fueron los nueve metales pesados en el agua superficial) y del agua de dilución o medio en el que se realice el ensayo, que en esta investigación fue agua embotellada (Kolarova et al., 2021).

El punto AS-03, relacionado con una zona de actividad minera, presentó valores de mayor toxicidad letal y subletal, en comparación con los puntos AS-01 y AS-02, que también se encontraron en una zona minera de mayor magnitud. Eso podría explicarse por la cercanía que tiene AS-03 con el puerto del centro poblado Boca Colorado, el cual, en comparación con el punto AS-04 (en la zona del puerto), podría tener descargas de aguas residuales domésticas y comerciales de la población (Ministerio de Vivienda, 2016), similar a lo encontrado en el estudio de Loza-Del Carpio y Ccancapa-Salcedo (2020).

Estos factores contaminantes adicionales a la contaminación por la minería ilegal pueden presentar efectos en los bioindicadores por otros metales pesados como el Pb, el cual sobrepasó el ECA agua. El Pb, a pesar de encontrarse naturalmente en el medio ambiente, también es vertido por diferentes tipos de industrias como minería, fundición, fabricación de cemento, pinturas y pilas (Ishaque et al., 2020), combustión de carbón, gasolina y petróleo, plaguicidas de arseniato de Pb, latas de alimentos, campos agrícolas y aguas residuales municipales (Pramita et al., 2021). Según el INEI, en el 2012 se contabilizaron 400 unidades agrícolas en 112383 has de superficie agrícola en el distrito de Madre de Dios, al cual pertenece el área de estudio, y en el 2016 se registraron los cultivos de Brachiaria, plátano, zapallo y papaya como los más predominantes en la provincia (Instituto Nacional de Estadística e Información [INEI], 2017).

A medida que aumenta la contaminación ambiental antropogénica en el planeta Tierra, el desarrollo y la aplicación de modelos biológicos para monitorear la toxicidad de los metales pesados son esenciales y pueden usarse como un método de detección para evaluar contaminantes en el medio ambiente acuático. Se deben realizar más investigaciones con un conjunto más amplio de metales pesados y xenobióticos.

CONCLUSIONES

El presente estudio encontró que *D. magna* no evidenció toxicidad aguda en el agua superficial ni en los sedimentos

elutriados del río Madre de Dios, Perú; esto a pesar de que el Pb sobrepasó los valores del ECA para el agua superficial, y el As y el Cu lo hicieron para el sedimento. En *P. innesi* se evidenció toxicidad con efectos letales (mortalidad) y subletales (nado extraño) en el agua superficial. Asimismo, el punto de muestreo AS-03 fue el más tóxico de los cuatro puntos de agua superficial para el Neón Tetra; no obstante, según los grados de toxicidad, este punto se clasificó como marginalmente tóxico según la ET de Roig. Por último, se halló que el Hg para el agua superficial no sobrepasó los valores del ECA para agua del Perú. Se sugiere hacer un mayor análisis de otras fuentes de contaminación antropogénicas, como los plaguicidas e hidrocarburos, y de sus efectos ecotoxicológicos agudos y crónicos en otros organismos acuáticos amazónicos, tanto plantónicos y bentónicos, como nectónicos. De esta manera, se debe continuar la evaluación de otras concentraciones de sustancias químicas en *D. magna* y en otros organismos acuáticos del río Madre de Dios.

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

Ambos autores contribuyeron a la conceptualización de la investigación, formulación de la metodología, toma de datos, análisis y discusión de resultados y escritura del artículo.

AGRADECIMIENTOS

La primera autora agradece a la Universidad Científica del Sur por el financiamiento de la presente investigación, a la Universidad Nacional Federico Villarreal y sus alumnos por su laboratorio y colaboración, a los funcionarios del acuario Rokasd por su ayuda intelectual, a mis padres y Hedder Díaz por su ayuda logística, y al más importante, a Dios por su bendición.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses

REFERENCIAS

- Alegre, A., Bonifaz, E., Lee, S. E. S., Alvarioño, L., e Iannacone, J. (2018). Monitoreo ecotoxicológico de una cuenca en Huancavelica, Perú afectada por metales pesados. *Revista electrónica de Veterinaria*, 19(5), 1-14.
- Al-Tae, S. K., Al-Mallah, K. H., y Ismail, H. K. (2020). Review on some heavy metals toxicity on freshwater fishes. *Journal of Applied Veterinary Sciences*, 5(3), 78-86. <https://doi.org/10.21608/javs.2020.100157>
- Ashe, K. (2012). Elevated mercury concentrations in humans of Madre de Dios, Peru. *PLoS ONE*, 7(3), e33305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033305>
- Byeon, E., Kang, H. M., Yoon, C., y Lee, J. S. (2021). Toxicity mechanisms of arsenic compounds in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, 237, 105901. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105901>
- Caja-Molina, A. V., e Iannacone, J. (2021). Evaluación del riesgo ambiental por petróleo crudo en las especies acuáticas *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 45(176), 777-794. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.1398>
- Canadian Environmental Quality Guidelines - CCME (1995). Protocol for the derivation of Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. [bit.ly/3PQ2Bwz](http://www3.intl.nea.ca/3PQ2Bwz)
- Cruz-Esquivel, A. D. J., y Marrugo-Negrete, J. L. (2022). Concentraciones de metilmercurio en *Prochilodus magdalenae* (Teleostei: Curimatidae) y *Hoplias malabaricus* (Teleostei: Erythrinidae) en la cuenca baja del río Cauca-Magdalena, norte de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 27 (1), 28-35. <https://doi.org/10.15446/abc.v27n1.83092>
- Dellafredad, C., e Iannacone, J. (2021). Efecto ecotoxicológico de la mezcla de Aroclor 1254 y plomo en el bioindicador *Daphnia magna*. *Revista Lasallista de Investigación*, 18(2), 144-161. <https://doi.org/10.22507/rli.v18n2a11>
- Diringer, S. E., Feingold, B. J., Ortiz, E. J., Gallis, J. A. Araujo-Flores, J. M., Berky, A., Pan, W. K. Y., y Hsu-Kim, H. (2015). River transport of mercury from artisanal and small-scale gold mining and risks for dietary mercury exposure in Madre de Dios, Peru. *Environmental Sciences Process and Impacts*, 17(2), 478-487. <https://doi.org/10.1039/C4EM00567H>
- García-Alcalde, M., Minaya, D., Alvarioño, L., Iannacone, J., y Rodríguez, A. (2023). Ensayos ecotoxicológicos para evaluar antibióticos y ansiolíticos en el ambiente acuático. *Revista Producción + Limpia*, 18(1), 64-84. <https://doi.org/10.22507/pml.v18n1a5>
- Iannacone, J., Onofre, R., y Huanqui, O. (2007a). Efectos ecotoxicológicos del cartap sobre *Poecilia reticulata* "guppy" (Poeciliidae) y *Paracheirodon innesi* "neon tetra" (Characidae). *Gayana (Concepción)*, 71(2), 170-177. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382007000200005>
- Iannacone, J., Onofre, R., Huanqui, O., Giraldo, J., Mamani, N., Miglio, M. C., y Alvarioño, L. (2007b). Evaluación del riesgo ambiental del insecticida Metamidofos en bioensayos con cuatro organismos acuáticos no destinatarios. *Agricultura Técnica*, 67(2), 126-138. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072007000200002>
- Instituto Nacional de Estadística e Información - INEI (2017). Compendio estadístico de Madre de Dios 2017. bit.ly/3t59RMh

- Instituto Nacional de Recursos Naturales - INRENA (2008). Plan Maestro de la Reserva Comunal Amarakaeri 2008-2012. bit.ly/3Pmd7Ks
- Ishaque, A., Ishaque, S., Arif, A., y Abbas, H. G. (2020). Toxic effects of lead on fish and human. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2020(1), 47. <https://doi.org/10.54112/bcsrj.v2020i1.47>
- ISQG - Interim Sediment Quality Guidelines. (2006). Canadian Environmental Quality Guidelines [CCME]. Canadian Council of Ministers of the Environment. bit.ly/3rpz6IF
- Kolarova, J., Velisek, J. y Svobodova, Z. (2021). Comparison of *in vitro* (fish cell line) and *in vivo* (fish and crustacean) acute toxicity tests in aquatic toxicology. *Veterinarni Medicina*, 66(8), 350-355. <https://doi.org/10.17221/161/2020-VETMED>
- Kucharczyk, D., Targonska, K., Zarski, D. y Krejszeff, S. (2010). The reproduction of neon tetra, *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936), under controlled conditions. *Polish Journal of Natural Sciences*, 25(1), 81-92. <https://doi.org/10.2478/v10020-010-0006-x>
- Lee, J. W., Choi, H., Hwang, U. K., Kang, J. C., Kang, Y. J., Kim, K. I. y Kim, J. H. (2019). Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.010>
- Li, J. J., Zhang, X. J., Yang, Y., Huang, T., Li, C., Su, L., Zhao, Y. H., y Cronin, M. T. D. (2018). Development of thresholds of excess toxicity for environmental species and their application to identification of modes of acute toxic action. *Science of the Total Environment*, 616-617, 491-499. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.308>
- Loza-Del Carpio, A. L., y Ccancapa-Salcedo, Y. (2020). Mercurio en un arroyo altoandino con alto impacto por minería aurífera artesanal (La Rinconada, Puno, Perú). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 36(1), 33-44. <https://doi.org/10.20937/rica.2020.36.53317>
- Martínez, G., McCord, S. A., Driscoll, C. T., Todorova, S., Wu, S., Araújo, J. F., Vega, C. M., y Fernández, L. E. (2018). Mercury contamination in riverine sediments and fish associated with artisanal and small-scale gold mining in Madre de Dios, Peru. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(8), 1584. <https://doi.org/10.3390/ijerph15081584>
- Ministerio de Vivienda (2016). Declaración de Impacto Ambiental del Proyecto “Construcción de los sistemas de agua potable, alcantarillado y planta de tratamiento de aguas residuales de la localidad de Boca Colorado Madre de Dios – Manu – Madre de Dios”. bit.ly/46miqR1
- Ministerio del Ambiente - MINAM (2017). Decreto Supremo N° 004-2017-MINAM (Ministerio del Ambiente [MINAM], 2017). bit.ly/3PuGJFR
- Molina, C. I., Gibon, F. M., Duprey, J. L., Dominguez, E., Guimaraes, J. R., y Roulet, M. (2010). Transfer of mercury and methylmercury along macroinvertebrate food chains in a floodplain lake of the Beni River, Bolivian Amazonia. *Science of the Total Environment*, 408(16), 3382-3391. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.04.019>
- Olguín, E., Gonzáles-Portela, R. E., Sánchez-Galván, G., Zamora-Castro, J. E., y Owen, T. (2019). Contaminación de ríos urbanos: El caso de la subcuenca del río Sordo en Xalapa, Veracruz, México. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 1(2), 178-190. bit.ly/3ERhGba
- Olivero-Verbel, J., Carranza-Lopez, L., Caballero-Gallardo, K., Ripoll-Arboleda, A., y Muñoz-Sosa, D. (2016). Human exposure and risk assessment associated with mercury pollution in the Caquetá River, Colombian Amazon. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(20), 20761-20771. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7255-3>
- Organization for Economic Cooperation and Development - OECD (2019). Guideline for testing of chemicals. Fish, Acute Toxicity Test N° 203. <https://doi.org/10.1787/20745761>
- Panduro, G., Rengifo, G. F., Barreto, J. L., Arbaiza-Peña, A. K., Iannacone, J., Alvaríño, L., y Crnobrna, B. (2020). Bioacumulación por mercurio en peces y riesgo por ingesta en una comunidad nativa en la Amazonía peruana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), e18177.
- Pistilli, M. (2020). Largest producers of gold by country. Investing News Network. bit.ly/3roGjBU
- Pramita, G., Priyajit, B., Pradip, M., y Nimai-Chandra, S. (2021). Effect of heavy metals on fishes: *Toxicity and bioaccumulation*. *Journal of Clinical toxicology*, 11(18), 1-10. bit.ly/46nZams
- Príncipe-Morillo, F.M., Minaya-Angoma, D., Alvaríño-Flores, L. Iannacone, J., y Rodríguez-Santiago, A. (2022). El mejillón *Semimytilus patagonicus* (Mytilida: Mytilidae) y el gusano *Pseudonereis gallapagensis* (Phyllodocida: Nereididae) como herramientas ecotoxicológica para la contaminación por detergentes en ambientes marinos. *Revista de Biología Tropical*, 70, 658-667. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.2022.50167>
- Repetto, M., y Sanz, P. (1993). *Glosario de términos toxicológicos*. bit.ly/3PuohNp
- Rice, K. M., Walker, E. M., Wu, M., Gillette, C., y Blough, E. R. (2014). Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of Preventive Medicine & Public Health*, 47(2), 74-83. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2014.47.2.74>
- Roig, N., Sierra, J., Nadal, M., Moreno-Garrido, I., Nieto, E., Hampel, M., Perez-Gallego, E., Schuhmacher, M., y Blasco, J. (2015). Assessment of sediment ecotoxicological status as a complementary tool for the evaluation of surface water quality: the Ebro river basin case study. *Science of the Total Environment*, 503-504, 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.125>

- Ryan, A. C., Tomasso, J. R., y Klaine, S. J. (2009). Influence of pH, hardness, dissolved organic carbon concentration, and dissolved organic matter source on the acute toxicity of copper to *Daphnia magna* in soft waters: implications for the biotic ligand model. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(8), 1663–1670. <https://doi.org/10.1897/08-361.1>
- Stockemer, D. (2019). *Quantitative Methods for the Social Sciences. A Practical Introduction with Examples in SPSS and Stata*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-99118-4>
- Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas – SERNANP (2016). Plan maestro de la Reserva Comunal Amarakaeri 2016-2021. bit.ly/48CMUAq
- Shastri, Y., y Diwekar, U. (2008). Optimal control of lake pH for mercury bioaccumulation control. *Ecological Modelling*, 216(1), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2008.03.019>
- Sirén, A. (2021). Una aproximación al volumen de la pesca en la Amazonía peruana utilizando datos de consumo y de desembarque. COPESCAALC Documento Ocasional N° 17. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cb5039es>
- Spence, R., y Barton, J. (2003). Stabilization of mercury in high pH tank sludges. Memorias. <https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metadc782433/m1/1/>
- Terneus-Jácome, E., y Yáñez, P. (2018). Principios fundamentales en torno a la calidad del agua, el uso de bioindicadores acuáticos y la restauración ecológica fluvial en Ecuador. *La Granja, Revistas de Ciencias de la Vida*, 27(1), 36-50. <https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.03>
- Teixidó, E., Leuthold, D., de Crozé, N., Léonard, M., y Scholza, S. (2020). Comparative assessment of the sensitivity of fish early-life stage, *Daphnia*, and algae tests to the chronic ecotoxicity of xenobiotics: perspectives for alternatives to animal testing. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(1), 30–41. <https://doi.org/10.1002/etc.4607>
- Tomaiña, J., e Iannacone, J. (2020). Toxicidad letal y subletal del arsénico, cadmio, mercurio y plomo sobre el pez *Paracheirodon innesi* neon tetra (Characidae). *Revista de Toxicología*, 35(2), 95-105. <http://rev.aetox.es/wp/wp-content/uploads/2018/12/Revista-de-Toxicologia-35.2-17-27.pdf>
- United States Environmental Protection Agency - USEPA. (1996). EPA Method 3050B rev. 2 1996. Acid digestion of sediments, sludges, and soils. bit.ly/3t3HfTJ
- United States Environmental Protection Agency - USEPA. (1999). EPA Method 200.8 rev. 5.4. 1999. Determination of trace elements in waters and wastes by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry. bit.ly/3ryxKv4
- United States Environmental Protection Agency - USEPA. (1998). Contaminated sediment management strategy. EPA 823-R-98-001. bit.ly/3PxuV5L
- United States Environmental Protection Agency - USEPA. (2014). EPA Method 6020A rev. 1 2014. Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry. bit.ly/3Pvx6xX
- Vargas-Licona, S. P., y Marrugo-Negrete, J. L. (2019). Mercurio, metilmercurio y otros metales pesados en peces de Colombia: Riesgo por ingesta. *Acta Biológica Colombiana*, 24(2), 232-242. <https://doi.org/10.15446/abc.v24n2.74128>

ANEXO

Tabla 1S. Efecto del agua superficial y del sedimento del río Madre de Dios, Perú sobre la mortalidad de la pulga del agua *Daphnia magna* según la prueba de Tukey.

Muestras	Efectos h Conc.(%)	Agua superficial				Sedimento			
		24		48		24		48	
AS - 01	Control	0	a	0	a	0	a	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	0	a	0	a	0	a	0	a
	50	0	a	0	a	0	a	0	a
	100	0	a	0	a	2,56	a	2,63	a
	NOEC	100		100		100		100	
	LOEC	>100		>100		>100		>100	
	CL ₅₀	>100		>100		>100		>100	
	F	0,80		1,58		1,80		1,89	
	p	0,56		0,21		0,16		0,14	
ET	0		0		0		0		
AS - 02	Control	0	a	0	a	0	a	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	0	a	0	a	0	a	0	a
	50	0	a	0	a	0	a	0	a
	100	0	a	0	a	0	a	0	a
	NOEC	100		100		100		100	
	LOEC	>100		>100		>100		>100	
	CL ₅₀	>100		>100		>100		>100	
	F	0,40		1,16		0,80		0,78	
	p	0,84		0,36		0,56		0,57	
ET	0		0		0		0		
AS - 03	Control	0	a	0	a	0	a	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	0	a	0	a	0	a	0	a
	50	2,56	a	0	a	2,56	a	0	a
	100	2,56	a	2,63	a	0	a	2,63	a
	NOEC	100		100		100		100	
	LOEC	>100		>100		>100		>100	
	CL ₅₀	>100		>100		>100		>100	
	F	1,02		1,16		1,80		1,88	
	p	0,43		0,36		0,16		0,14	
ET	0		0		0		0		

(Continúa)

Muestras	Efectos h Conc.(%)	Agua superficial				Sedimento			
		24		48		24		48	
AS - 04	Control	0	a	0	a	0	a	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	0	a	0	a	0	a	0	a
	50	0	a	0	a	0	a	0	a
	100	2,56	a	2,63	a	0	a	2,63	a
	NOEC	100		100		100		100	
	LOEC	>100		>100		>100		>100	
	CL ₅₀	>100		>100		>100		>100	
	F	0,78		1,80		1,00		1,89	
	p	0,57		0,16		0,44		0,14	
	ET	0		0		0		0	

AS: Muestras de Agua Superficial del 1-4. CL₅₀ = Concentración Letal (Efectiva) media. NOEC = concentración de efecto no observado. LOEC = concentración mínima de efecto observado. F= Estadístico de Fisher del ANOVA. p= probabilidad. Letras minúsculas diferentes en una misma columna para cada muestra de agua superficial indica que los valores en % de muerte son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (p<0,05). Los rangos de ecotoxicidad según Roig son: 0 = "no tóxico"; 1 = "ligeramente tóxico"; 2 = "marginamente tóxico".

Tabla 2S. Efecto del agua superficial del río Madre de Dios, Perú sobre la mortalidad y nado extraño del Neón Tetra *Paracheirodon innesi* según la prueba de Tukey.

Muestras	Efectos		Muerte				Nado extraño										
	h	Conc.(%)	24	48	72	96	24	48	72	96							
AS - 01	Control	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	ab	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	2,63	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	0	a	7,69	a	18,42	b	23,68	b	2,56	a	2,7	ab	16,67	bc	25	b
	50	5,13	a	15,38	a	26,32	bc	36,84	bc	5,13	a	16,22	bc	30,56	cd	47,22	c
	100	10,26	a	28,21	a	42,11	c	50	c	10,26	a	29,73	c	44,44	d	58,33	c
	NOEC	100		25		12,5		12,5		100		50		25		12,5	
	LOEC	>100		50		25		25		>100		100		50		25	
	CL(E) ₅₀	>100		>100		>100		75,85		>100		>100		82,02		54,93	
	F	2,49		22,62		24,63		35,30		1,80		17,73		34,45		39,28	
	p	0,070		<0,001		<0,001		<0,001		0,164		<0,001		<0,001		<0,001	
	ET	0		0		0		1		0		0		1		2	
AS - 02	Control	0	a	0	a	0	a	0	a	0	ab	0	ab	0	a	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	ab	0	a	2,63	a
	25	5	a	12,82	ab	20,51	b	23,08	b	2,56	ab	13,16	bc	23,68	b	26,32	b
	50	10	ab	20,51	bc	28,21	b	33,33	bc	10,26	bc	21,05	cd	26,32	b	34,21	bc
	100	17,5	b	33,33	c	46,15	c	53,85	c	20,51	c	31,58	d	44,74	c	52,63	c
	NOEC	50		25		12,5		12,5		50		25		12,5		12,5	
	LOEC	100		50		25		25		100		50		25		25	
	CL(E) ₅₀	>100		>100		95,54		77,18		>100		>100		95,21		73,5	
	F	9,80		15,54		37,80		24,70		1,077		13,49		33,76		29,74	
	p	<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001	
	ET	0		0		1		1		0		0		1		1	
AS - 03	Control	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	ab	0	a	0	a
	6,25	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	2,56	a	7,69	ab	17,95	b	30,77	b	2,63	a	10,53	bc	28,95	b	44,74	b
	50	5,13	a	12,82	bc	30,77	b	43,59	b	7,89	a	15,79	c	36,84	bc	52,63	b
	100	15,38	b	28,21	c	61,54	c	76,92	c	26,32	b	34,21	d	68,42	c	84,21	c
	NOEC	50		25		12,5		12,5		50		25		12,5		12,5	
	LOEC	100		50		25		25		100		50		25		25	
	CL(E) ₅₀	>100		>100		73,99		50,17		>100		>100		57,64		38,46	
	F	9,65		20,40		42,54		77,43		8,69		31,99		21,73		57,06	
	p	<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001	
	ET	0		0		1		2		0		0		2		2	

(Continúa)

Muestras	Efectos h Conc.(%)	Muerte								Nado extraño							
		24		48		72		96		24		48		72		96	
AS - 04	Control	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	6,25	2,5	a	0	a	0	a	0	a	2,5	a	0	a	0	a	2,56	a
	12,5	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a	0	a
	25	0	a	0	a	5,13	ab	7,69	a	0	a	0	a	5,13	a	7,69	a
	50	0	a	2,56	a	20,51	ab	23,08	ab	2,5	a	7,69	ab	28,21	ab	30,77	ab
	100	7,5	a	17,95	b	41,03	b	53,85	b	7,5	a	17,95	b	46,15	b	58,97	b
	NOEC	100		50		50		50		100		50		50		50	
	LOEC	>100		100		100		100		>100		100		100		100	
	CL(E) ₅₀	>100		>100		>100		88,02		>100		>100		>100		81,21	
	F	1,89		11,72		3,63		6,88		1,45		5,92		4,84		7,54	
	p	0,14		<0,001		0,019		0,001		0,25		0,002		0,006		<0,001	
	ET	0		0		0		1		0		0		0		1	

AS: Muestras de Agua Superficial del 1-4. CL(E)₅₀ = Concentración Letal (Efectiva) media. NOEC = concentración de efecto no observado. LOEC = concentración mínima de efecto observado. F= Estadístico de Fisher del ANOVA. p= probabilidad. Letras minúsculas diferentes en una misma columna para cada muestra de agua superficial indica que los valores en % de muerte y nado extraño son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey (p<0,05). Los rangos de ecotoxicidad según Roig son: 0 = “no tóxico”; 1 = “ligeramente tóxico”; 2 = “marginamente tóxico”.