



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Ciencias

Bases Metodológicas Experimentales para Determinar el Efecto de la Fracción Soluble en Agua del Petróleo Crudo sobre las Respuestas Fisiológicas: Supervivencia y Osmorregulación del Camarón Café Penaeus aztecus, Ives

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

Rosa del Carmen Barrera Valdivia

México, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

I N D I C E

	Pág.
Introducción	1
Area de estudio	9
Material y método	12
Resultados y Discusión	20
Referencias bibliográficas	33
Tablas y figuras	37
Apéndice	54

INTRODUCCION

La contaminación acuática por petróleo actualmente es un problema a nivel mundial. Según la National Academy of Sciences (1975) se vierten aproximadamente 6.2 millones de toneladas métricas de petróleo por año tanto en mares como en océanos, de las cuales cerca del 28% se ha localizado en zonas costeras (bahías, estuarios y lagunas). Estas zonas son de gran importancia ecológica, dada la cantidad y diversidad de los organismos que las habitan los que quedan expuestos en forma directa y por mayor tiempo a este tipo de contaminación (Botello, 1980; Gundlach, 1977).

En los estuarios se ha observado que este tipo de hidrocarburos actúan interfiriendo o bloqueando procesos biológicos esenciales, como son la fotosíntesis y la respiración, lo que llega a provocar la muerte de los organismos y por lo tanto producen daños considerables al ecosistema y a la economía pesquera. Asimismo, se ha detectado que varios compuestos aromáticos, algunos de los cuales presentan propiedades carcinógenas, no se degradan y se acumulan en los tejidos de los organismos a través de la cadena alimentaria (Bingham, et al., 1965; Teal, 1977).

Las investigaciones que se han llevado a cabo revelan que la exposición de los organismos marinos a la contaminación por petróleo trae como resultado un amplio rango de cambios conductuales y fisiológicos, incluyendo el crecimiento y la reproducción.

En los primeros, se han observado modificaciones en las respuestas de

alimentación, apareamiento y patrones de actividad locomotora principalmente en crustáceos. De igual manera, en las respuestas fisiológicas de los animales, se han demostrado alteraciones en el metabolismo de algunos peces y de varios invertebrados marinos que incluso llegan hasta el nivel de enzimas. También existen evidencias que sugieren un efecto adverso en la capacidad osmorreguladora en los peneidos, todo lo cual reduce su resistencia al "stress" ambiental al que de por sí están sujetos (Anderson, 1974; Dunning y Major, 1974; Heitz, et al., 1974; Patten, 1977).

En referencia al crecimiento, se ha reportado retraso en diferentes estadios de vida y merma en la reproducción y sobrevivencia de los organismos (Struhsaker, et al., 1974; Anderson, 1977; Johnson, 1977).

Por otra parte, la localización y explotación de nuevos y abundantes yacimientos petrolíferos que se ha llevado a cabo en los últimos años en la plataforma continental de las costas del Golfo de México, ha traído como consecuencia que hoy en día, esta área presente concentraciones considerables de hidrocarburos. En forma particular, las Lagunas de Pueblo Viejo y Tamiahua en Veracruz y las Lagunas del Carmen y Machona en Tabasco, se consideran como zonas contaminadas debido principalmente a las descargas sistemáticas de refinerías y plantas petroquímicas que las rodean, además de las operaciones de embarque y posibles derrames naturales y/o accidentales (Botello, 1978).

En la actualidad, sólo se ha determinado la cantidad de hidrocarburos en la columna de agua, en sedimentos y los que se encuentran fijados en los tejidos de algunos organismos (bivalvos y pastos marinos) de ciertas zo-

nas del Golfo de México (Bravo, et al., 1978; Botello, 1978; Botello y Mandelli, 1978; Botello y Mandelli, 1979; Botello, 1980). Se desconocen casi completamente los efectos biológicos que se han provocado en esas áreas.

Sin embargo, para llevar a cabo un análisis del ambiente, es necesario realizar no sólo exámenes de línea básica para conocer las condiciones físicas, químicas y biológicas de determinada zona sino también bioensayos o análisis de dosis-respuesta. En este tipo de pruebas, se determina la reacción de los organismos a una serie gradual de concentraciones de sustancias que pueden ser tóxicas o no; generalmente un aumento en la dosis trae consigo un incremento en la respuesta del individuo. Por último, es necesario efectuar un monitoreo o evaluación sistemática de la condición biológica para poder llevar un control de calidad adecuado en base a un flujo continuo de información sobre el impacto en los seres vivos (Calrns, 1980).

Hasta la fecha, los bioensayos que se han usado más comúnmente son pruebas agudas que en su mayoría no exceden de 96 horas y en exposiciones estáticas, debido a que son relativamente fáciles de realizar y de bajo costo. Por el contrario, la tecnología para los bioensayos de flujo continuo, especialmente cuando se trabaja con petróleo es complicada, costosa y por lo tanto de lento desarrollo.

El principal objetivo de estos estudios ha sido obtener la concentración letal para el 50% de los individuos (CL_{50}); pero también es necesario estudiar el efecto del contaminante sobre las respuestas fisiológicas y

conductuales de los organismos en concentraciones subletales de estos tóxicos durante todo el ciclo de vida de los animales. Inclusive, también es necesario extender el estudio para determinar el efecto sobre el desarrollo embrionario.

En la mayoría de las pruebas de toxicidad se trabaja comúnmente con una sola fase del ciclo de vida de una especie y ocasionalmente varias de ellas. También se han hecho investigaciones con una mezcla de niveles tróficos (Anderson, et al., 1974; La Roche, et al., 1970) y por consiguiente, la información obtenida sólo se puede aplicar directamente a dicho estadio de vida, en las condiciones de temperatura y calidad de agua utilizadas.

Los bioensayos se consideran particularmente útiles en la evaluación de los efectos de las mezclas como es el caso del petróleo crudo, el cual está constituido en su mayor parte por hidrocarburos alifáticos, acíclicos y aromáticos, debido a que:

- a) Algunos tóxicos tienen efectos biológicos a niveles por debajo de los detectables en los análisis químicos.
- b) Algunos compuestos actúan en forma sinérgica (el efecto combinado es mayor que los efectos aditivos individuales) o antagónica (el efecto combinado es menor que los efectos individuales).
- c) La respuesta tóxica puede ser mediada fuertemente por la calidad del agua (Cairns, 1980).

Este tipo de estudios, permite establecer el rango de concentraciones de sustancias que son nocivas o benéficas para los seres vivos. Asimismo, permite conocer las concentraciones a probar en exposiciones subletales crónicas y determinar las especies sensibles de un ecosistema que más tarde se usarán como indicadores para un tipo específico de contaminación (Craddock, et al., 1977).

Sin embargo, estas pruebas no proveen toda la información para evadir el análisis químico, ya que éste es esencial para conocer la concentración precisa que produjo una respuesta específica; por tal motivo, es necesario que un bioensayo contemple ambos aspectos puesto que son pruebas complementarias y no excluyentes.

En general la actividad biológica ejercida por cualquier contaminante, a nivel bioquímico, está relacionada con la concentración que tenga en los tejidos, su vida media biológica y la naturaleza de los grupos químicos que lo constituyen. Especialmente en el caso del petróleo por tratarse de una mezcla, estos parámetros a su vez están determinados por factores biológicos como son el contenido de lípidos, la eficiencia para ingerir hidrocarburos y las rutas de entrada y desecho de los mismos, todo lo cual hace que existan diversos grados de sensibilidad y respuestas en los organismos (Stegeman, 1974).

Por tal motivo, es necesario realizar estudios enfocados al conocimiento no sólo de los efectos "in situ" sobre la biota expuesta a este tipo de contaminación a corto y a largo plazo, sino también realizar investigaciones tendientes a medir las respuestas fisiológicas y conductuales de

los organismos en exposiciones subletales crónicas. Lo señalado es importante puesto que la economía de México en los próximos años se basará en la explotación de este recurso no renovable, se incrementará la producción de las plantas de tratamiento y el transporte de crudo y productos refinados.

Ahora bien, antes de examinar la respuesta fisiológica de un organismo expuesto a un contaminante se debe tener un conocimiento detallado de la variable fisiológica a determinar bajo condiciones normales, es decir sin contaminante.

En el presente trabajo se propuso detectar algunas de las alteraciones fisiológicas del camarón café Penaeus aztecus de las costas de Veracruz producidas por la contaminación por petróleo. Se seleccionó esta especie debido a que tiene una amplia distribución en todo el Golfo de México, es sensible a condiciones adversas, presenta adaptabilidad en el laboratorio y tiene importancia económica y ecológica.

En general, los peneidos se caracterizan por tener un ciclo de vida complejo: los estadios de postlarva y juvenil habitan en estuarios y lagunas costeras donde, además de la contaminación de hidrocarburos introducida por el hombre, hay grandes variaciones de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto, factores que limitan la distribución y supervivencia de estos organismos.

Entre estos factores, la salinidad juega un papel importante a través de sus efectos osmóticos. Los camarones que penetran en las lagunas costeras,

pueden regular la concentración de sus fluidos corporales con respecto al medio, lo cual implica el uso de procesos activos, o sea gasto de energía, en medios hipo e hiperosmóticos. Varios investigadores coinciden en que el trabajo osmótico de un organismo sería mínimo cuando el medio externo y su fluido corporal estuvieran en equilibrio, es decir, en condiciones de isosmoticidad; la demanda de oxígeno de los animales decrecería y la mortalidad natural provocada por la baja tensión de este gas disminuiría (Panikkar, 1968; Sánchez, 1979).

Debido a que en la población de Penaeus aztecus del Golfo de México se presentan razas fisiológicas (Sánchez, 1979; Díaz y Latournerié, 1980; Latournerié, et al., 1980), fue indispensable realizar un estudio previo, ya que los camarones utilizados en este trabajo provenían de la Laguna de Tamiahua, Ver., que se ubica más al norte del sitio de estudio de los autores mencionados. Se midieron la supervivencia y la osmorregulación en cambios bruscos de salinidad. La temperatura se mantuvo a la temperatura que prevalece en el medio, esto es a 30°C.

En base a lo anteriormente expuesto, se consideró relevante establecer los lineamientos metodológicos experimentales para determinar en un bioensayo estático, el efecto de la fracción soluble en agua del petróleo crudo (FSA) sobre las respuestas fisiológicas: supervivencia y osmorregulación del camarón café Penaeus aztecus, Ives.

En la realización del trabajo se consideraron los siguientes objetivos particulares:

1. Determinar la concentración a la cual el medio interno de P. aztecus es igual a la del medio externo para no introducir sesgos en el bioensayo.
2. Determinar el porcentaje de la fracción soluble en agua (FSA) de la mezcla petróleo-agua de mar en la que se presente el 50% de mortalidad (CL₅₀) para esta especie a las 24 horas a la salinidad del punto isosmótico y temperatura de 30°C.
3. Medir el efecto de la fracción soluble del petróleo crudo sobre la osmorregulación de los organismos después del período de exposición a cada una de las concentraciones del contaminante.

Cabe mencionar que esta tesis forma parte del proyecto denominado "Respuestas fisiológicas del camarón café, Penaeus aztecus, de las costas de Veracruz a la contaminación por hidrocarburos" del Laboratorio de Ecofisiología, Depto. de Biología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

AREA DE ESTUDIO

La Laguna de Tamiahua se localiza al norte del Estado de Veracruz entre los 21°06' y 22°06' de latitud Norte y 97°23' y 97°46' de longitud Oeste, entre los ríos Pánuco y Tuxpan con los cuales mantiene comunicación a través de los canales La Ribera y Tampamachoco (Fig. 1).

Este cuerpo de agua tiene una longitud aproximada de 93 Km, anchura máxima de 21.5 Km y una profundidad media de 2 a 3 m. Es una laguna cuspada separada del Golfo de México por una barrera arenosa de forma triangular llamada Cabo Rojo de 130 Km de longitud y 6 Km de anchura (Ayala-Castañares et al., 1969; Lankford, 1977).

Esta laguna presenta en la porción central, un conjunto de islas entre las que destacan por su gran tamaño las denominadas Juana Ramírez, del Toro y del Idolo. Es posible que estas islas formaran parte de un antiguo sistema de barrera (Ayala-Castañares, op. cit.).

Actualmente existen dos bocas, al sur la Boca de Corazones de origen natural y al norte la Boca de Tampachichi. Esta última es artificial y fue abierta hace aproximadamente dos años. En la laguna desembocan varios ríos de flujo estacional, los más importantes son La Laja, Tancochín, Cucharas y Tampache. El aporte fluvial determina el carácter general polihalino de la laguna.

El clima de la región es subhúmedo, lluvioso y con vientos del este en verano. El invierno es seco con fuertes vientos denominados "nortes". La ve-

vegetación circundante está constituida principalmente por mangle rojo (Rizophora mangle), mangle negro (Avicennia nitida), mangle blanco (Laguncularia racemosa) y mangle botoncillo (Conocarpus erectus), además de palmeras y vegetación pionera en la línea de playa (Barba y Sánchez, 1981).

La producción pesquera de la laguna se basa en las especies de peces tales como lisa (Mugil cephalus), lebrancha (Mugil curema), gurrubata (Micropogon undecimalis), tontón (Pogonias chromis) y sargo (Archosargus probatocephalus), los cuales se comercializan en fresco y ocasionalmente pocos se destinan a un semiprocesado. La mayoría de estas especies son de temporada o "corrida" (García, 1975).

La producción de ostión Crassostrea virginica también es importante. Respecto a este recurso, la laguna había mantenido un incremento anual del 4% hasta 1963, pero a fines de 1965 a causa de la actividad petrolera, se produjo una mortandad de ostiones en los principales bancos de la zona central de la laguna. Esto sucedió debido al derrame de 970.12 m³ de fluido para perforación lo cual, aunado a la sobre-explotación, ha mermado en la actualidad la producción de dicho recurso (Villalobos et al., 1968).

Bravo et al. (1978) encontraron en los bivalvos de esta zona 4.57 ppm de hidrocarburos poliaromáticos en una muestra de 100 organismos, lo cual contribuyó en forma determinante para considerar a la Laguna de Tamiahua entre las áreas costeras más contaminadas del Golfo de México.

En lo referente a la fauna carcinológica de interés comercial, ésta se li-

mita a tres especies de camarones, jaibas y en forma potencial el cangrejo moro. Entre los primeros el camarón café (Penaeus aztecus) objeto de este estudio, es el más abundante aunque también se captura camarón blanco (P. setiferus) y camarón rosado (P. duorarum) en menor proporción. La captura se realiza con artes de pesca fijos denominados "charangas", construidas por los pescadores. La mayor extracción se relaciona con las fases lunares y por ende con los movimientos cíclicos de mareas.

En general, la explotación de todos los recursos pesqueros de la laguna se lleva a cabo por medio de cooperativas entre las que sobresale Tamiahua por su alta producción, junto con Saladero y Reforma, Cucharas y la Ribera de Tampico Alto.

MATERIAL Y METODO

I. Captura y mantención de los organismos

Los juveniles de camarón café Penaeus aztecus, se colectaron durante los meses de septiembre y noviembre de 1981 y de abril a septiembre de 1982 en la Laguna de Tamiahua, Ver.

Las capturas de los animales se hicieron al anochecer en las empalizadas o "charangas", ya que estos camarones presentan hábitos nocturnos. Se utilizó una red de cuchara de apertura de malla de aproximadamente 1 cm y 100 cm de boca. En el mismo lugar, se registraron los factores fisicoquímicos. La temperatura se midió con termómetro y la salinidad con refractómetro (American Optical).

Los organismos se trasladaron al laboratorio en cajas de unicel y bolsas de polietileno con agua del medio y atmósfera saturada de oxígeno. La temperatura se bajó con hielo para disminuir la demanda metabólica de los animales.

En el laboratorio, los camarones se mantuvieron en un acuario de 800 l, aditado de filtro biológico y sistema de aireación constante. El agua de mar se preparó con sales sintéticas Instant Ocean y agua de la lluvia desclorinizada con salinidad de 30-32 o/ooS y 23°C de temperatura.

Los camarones se aclimataron a estas condiciones durante una semana a

quince días, en este lapso se alimentaron diariamente con trozos de Mugil sp. (Dawson, 1957).

II. Determinación del punto isosmótico

En esta fase del experimento 100 organismos se sometieron a 5 combinaciones de salinidad (10, 25, 50, 75 y 100% AM) a la temperatura de 30°C, durante 48 h, tiempo de adaptación necesario para que los camarones de esta especie estabilicen su medio interno (Sánchez, 1979).

Los animales se trasladaron bruscamente en grupos de 20 organismos del acuario de mantención a acuarios de 30 l de capacidad provistos de filtros exteriores de carbón activado y mantenidos a 30°C con calentadores de 60 watts. El oxígeno disuelto se conservó a nivel de saturación mediante piedras de aireación.

En la etapa experimental los camarones no se alimentaron y los que murieron se desecharon. Tampoco se separaron por sexos debido a que esta especie no presenta diferencias intersexuales en su función osmorreguladora (Espina, et al., 1976).

La supervivencia se midió cada seis horas y se anotó el número de organismos que permanecieron vivos durante el período de adaptación. Se consideró muerto un ejemplar cuando no respondía a estímulos mecánicos y el escafognatito había dejado de batir.

Al término del período de adaptación se procedió a extraer la hemolinfa

de cada individuo. Se punzó la membrana tóraco-abdominal con un capilar heparinizado, limpiando previamente el área para evitar la contaminación con el medio. Su punto de fusión se midió por el método de Gross modificado (Sánchez, 1979). Para conocer la presión osmótica de las muestras se interpoló el punto de fusión de las mismas en una recta patrón construída con los puntos de fusión de muestras de NaCl de concentraciones conocidas (Fig. 2).

III. Determinación de la mezcla agua-petróleo con CL_{50}

El petróleo utilizado en esta investigación provenía del derrame del Ixtoc I y fue proporcionado por los laboratorios de Química Marina y Contaminación y Microbiología del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.

La extracción de los hidrocarburos solubles en agua de este crudo se hizo en base a la técnica de Anderson, et al. (1974). El agua de mar con la que se efectuó esta extracción se preparó de manera similar a la del acuario de mantención.

Se realizó un experimento previo para establecer la mezcla petróleo-agua de mar cuya FSA presentar la CL_{50} para P. aztecus juvenil. Se elaboraron mezclas crudo-agua de mar a la salinidad del punto isosmótico (23 o/ooS) y temperatura experimental (30°C) en proporciones 1:9, 2:8 y 3:7 en botellones de 20 l; cada una de ellas se agitó durante un lapso de 20 h en un baño a 30°C. El dispositivo se muestra en la Fig. 3.

Después del período de agitación, la mezcla se dejó reposar de 3 a 8 h, se sifoneó la fase acuosa e inmediatamente se hicieron las siguientes diluciones con agua de mar a la salinidad y temperatura experimentales.

Mezcla petróleo-agua de mar	Dilución FSA (%)
1:9	100
2:8	100, 80 y 60
3:7	100, 50, 25, 12.5 6.3, 3.1 y 1.0

Los animales se colocaron en grupos de 3 camarones en cada dilución, de acuerdo a los lineamientos que más adelante se describen para el bioensayo.

La supervivencia se midió a las 24 y 48 h de exposición. Los criterios para determinar la muerte de los organismos fueron los mismos utilizados en la medición del punto isosmótico.

IV. Procedimiento del bioensayo

En forma previa a la exposición del contaminante, los camarones se adaptaron a las condiciones experimentales de salinidad y temperatura, para lo cual se trasladaron en grupos de 20 organismos desde el acuario de mantención a acuarios con volumen de 30 l provistos de filtro biológico y aireación constante, cuyos parámetros fueron 23 o/ooS y 30°C, como se indicó anteriormente. Los animales permanecieron en estas condiciones durante 48 h, por las razones expuestas (vide supra).

En el experimento previo, la Cl_{50} se encontró en el rango del 50 al

100% de FSA de la mezcla crudo-agua con proporción 3:7. Por tal motivo, en el bioensayo se emplearon las diluciones del 89.56, 71.14, 56.51 y 44.88% de FSA de este concentrado. El criterio utilizado para la elección de estas diluciones, obedece al espacio regular que debe mantener su transformación logarítmica, lo cual es requisito indispensable para el análisis estadístico empleado.

El dispositivo experimental usado en la prueba de toxicidad se presenta en la Fig. 4. Consta de 8 cámaras situadas en acuarios colocados en serie y conectados a un termorregulador (Forma Scientific) para mantener estable la temperatura experimental (30°C).

En las cámaras de 4 l, se vertieron 3 l de FSA para obtener las concentraciones indicadas. El oxígeno disuelto se mantuvo a niveles de saturación y la concentración del gas se controló analizando periódicamente muestras del medio con un oxímetro (YSI-54 ARC, Sc. Prod.).

En cada una de las cámaras experimentales se colocaron de 3 a 4 camarones de acuerdo a su tamaño. Durante la prueba de toxicidad, los camarones no se alimentaron ni se separaron por sexos por las razones expuestas.

En el mismo dispositivo se realizó un experimento control con 39 animales sin contaminante. Tanto en las cámaras experimentales como en los controles se cuantificó la supervivencia de los organismos.

La supervivencia se determinó contando los especímenes que permanecían

vivos. El conteo se realizó cada dos horas tanto en los controles como en las concentraciones bajas de FSA, durante las primeras doce horas y a las 24 h de exposición. En concentraciones altas del contaminante, ésta se registró en forma continua. Se consideró muerto un organismo utilizando los criterios mencionados en el punto III y en forma adicional, la falta de movimiento en pereiópodos y pleópodos.

La concentración letal para el 50% de los individuos (CL₅₀) se fijó a las 24 h de exposición al contaminante. Se seleccionó este período dado que la volatilización de los hidrocarburos solubles en agua, generalmente aromáticos, se acelera con la aireación (Anderson, et al., 1974).

Para la determinación de la CL₅₀ se diseñó un programa computacional en base a una modificación del método de análisis probit descrito por Finney (1971). Este programa consistió en simular la exposición de una población de camarones a diferentes concentraciones de contaminante cuya tolerancia tenía una distribución normal con μ y σ conocidos (Moreno, com. pers.).

En forma independiente, se simuló la exposición de 20 camarones a cada concentración del contaminante; las probabilidades experimentales respectivas se calcularon de acuerdo a la distribución binomial de la probabilidad teórica, puesto que las respuestas de los organismos son del tipo "todo o nada".

El valor de la probabilidad de muerte experimental (z) se graficó vs.

el ln de la concentración de FSA; estos datos se ajustaron a una recta. Este ajuste proporcionó los valores de μ y σ los cuales se compararon con los establecidos al principio del análisis para verificar la validez del método. Se determinó el intervalo de confianza de la CL_{50} para el 95% de los casos.

Este programa se aplicó a las probabilidades de muerte experimentales, determinadas según el método Bayesiano (Hoel, et al., 1971) encontradas en este trabajo.

V. Presión osmótica

Al concluir el período de exposición al contaminante, se determinó la concentración osmótica del medio interno de los organismos. La hemolinfa de los camarones se extrajo punzando la membrana tóraco-abdominal con una jeringa desechable de 1 ml. Se tomaron muestras de 0.2 ml por lo que se requirieron de 1 a 4 camarones por cada una de ellas. El 90% de la muestra estaba constituido por hemolinfa y el 10% por oxalato de amonio 0.1 M para así evitar la coagulación. Las muestras se midieron inmediatamente en un osmómetro (Osmette).

RESULTADOS Y DISCUSION

El camarón café Penaeus aztecus de amplia distribución en el Golfo de México, es de gran importancia en la industria pesquera. Al igual que otros peneidos, esta especie presenta un ciclo de vida complejo: se reproduce en aguas marinas y en estado de postlarva penetra a estuarios y lagunas costeras donde se desarrolla hasta el estado de preadulto. Estos lugares se caracterizan por presentar fluctuaciones de salinidad, temperatura, oxígeno y nutrientes, tanto diurnas como estacionales.

En forma adicional, la actividad humana ha contribuido a la alteración de las condiciones ecológicas de esas áreas al verter gran cantidad de desechos urbanos, industriales y los producidos por la explotación de los mantos petrolíferos ubicados a lo largo de toda la costa del Golfo.

Los organismos que habitan las lagunas costeras pueden regular la composición de su fluido corporal, para lo cual presentan variados mecanismos fisiológicos que les permiten mantener su viabilidad. Entre éstos destacan la reducción de la permeabilidad de la superficie corporal y de las branquias a las sales y al agua, la captación y excreción activa de sales, la regulación del volumen corporal, la reabsorción de agua y de sales en los órganos de excreción, lo que permite la regulación de la concentración osmótica interna (Lockwood, 1962; Vernberg y Vernberg, 1972).

Ahora bien, en la población de P. aztecus del Golfo de México se han encontrado razas fisiológicas, como se señaló anteriormente, por lo que fue

necesario para llevar a cabo esta investigación, determinar primeramente con precisión el punto isosmótico de la población de camarones de la Laguna de Tamiahua, Ver. y la supervivencia de los organismos en las combinaciones de salinidad y temperatura señaladas.

Los resultados de supervivencia indican un 85 a 100% de supervivientes en el rango de salinidad de 25 a 100% AM, es decir de 9 a 36 o/ooS, a las 48 horas (Tabla I, Fig. 5). Asimismo destaca el hecho que la salinidad más baja fue letal para el 50% de los animales a las 18 horas de exposición.

En la Tabla II se presenta la concentración osmótica de P. aztecus juvenil en diferentes salinidades y 30°C, el peso promedio y el número de ejemplares utilizados en cada experimento.

El punto isosmótico se encontró en 64% AM con una concentración de 23 o/oo NaCl. El rango de la concentración interna varió de 15.10 a 29.65 o/oo NaCl en las concentraciones del medio de 10 a 100% AM. Las diferencias entre los promedios de peso no resultaron significativas ($P > 0.05$). Se observó que a la temperatura de 30°C esta especie regula su medio interno en todo el rango de salinidad experimental; presentó un patrón de regulación hiperosmótico del 10 al 50% AM y en las salinidades del 75 al 100% AM éste fue hiposmótico (Fig. 6).

En la misma figura se observó un ligero pero constante incremento de la concentración de la hemolinfa a medida que la salinidad del medio aumentaba. Ambas variables se relacionan linealmente en un patrón de tipo $y = b + ax$, con valores de:

$$y = 13.19 + 0.15(x)$$

donde y es la concentración del medio interno en o/oo de NaCl, b la ordenada al origen, m la pendiente y x la salinidad del medio externo en o/ooS. El ajuste presentó un coeficiente de correlación $r = 0.99$.

De los datos presentados, se puede observar que existen diferencias entre los valores encontrados para la supervivencia máxima y el rango de tolerancia a la salinidad, de los especímenes de Tamiahua y las poblaciones de otras latitudes. Así Sánchez (1979), Díaz y Latournerié (1980) y Latournerié, et al. (1980), reportan una supervivencia del 100% en todo el rango entre 10 y 112% AM (3.6 a 39.6 o/ooS) para esta especie en Mandinga, Veracruz y Venkataramiah, et al. (1974) señala un 80% de supervivencia entre 47.2 y 94.4% AM (17 y 34 o/ooS) para los camarones de Galveston, Texas.

Por consiguiente, los resultados obtenidos en este trabajo, proporcionan evidencias que apoyan la hipótesis respecto a la existencia de razas fisiológicas en la población de P. aztecus del Golfo de México.

Por otra parte se destaca que este rango de supervivencia óptima a la temperatura de 30°C, disminuye a medida que la latitud aumenta ya que los camarones de Tamiahua presentan una tolerancia al medio diluido, intermedia entre los de Mandinga y Galveston. Las concentraciones que toleran dichas poblaciones son 3.6 y 17 o/ooS, respectivamente.

En referencia al comportamiento osmorregulatorio, P. aztecus de Tamiahua

presentó un comportamiento similar a los camarones de Mandinga (Sánchez, 1979), esto es, los animales regulan tanto hiposmóticamente como hiperosmóticamente aunque las ecuaciones de las rectas de regresión del medio interno vs. medio externo, son diferentes a las reportadas por este autor y por Williams (1960). Los modelos son los siguientes:

Ecuación	Localidad	Autor
$y = 15.11 + 0.43(x)$	Galveston, Tex.	Williams, 1960
$y = 25.70 + 0.12(x)$	Mandinga, Ver.	Sánchez, 1979
$y = 13.19 + 0.15(x)$	Tamiahua, Ver.	Este trabajo

De lo anterior, se observa que la ordenada en el para la especie en Tamiahua tiene una mayor similitud con el dato de Williams para los camarones de Galveston, que para los de Mandinga. En cambio la pendiente de la recta para los animales en Tamiahua se asemeja más a los de Mandinga que a los de Galveston. Estos resultados sugieren que P. aztecus juvenil de Veracruz, presenta procesos osmorregulatorios más eficientes que los mostrados por esta especie en latitudes mayores.

En lo referente al punto isosmótico, el valor encontrado en los peneidos de Tamiahua (23.04 o/ooS) es inferior al reportado para los camarones de Mandinga, Ver. (29.6 o/ooS).

Esta fase de la investigación es importante ya que proporciona el conocimiento de las condiciones de isosmoticidad requeridas, para que estos peneidos presenten una supervivencia óptima y un costo metabólico mínimo lo que les permitiría disponer de reservas energéticas para tolerar las fluctuaciones ambientales.

Ahora bien, en la naturaleza cualquier factor del medio se presenta en gradiente, en donde uno o ambos extremos determinan la limitación ecológica de los organismos de acuerdo a la tolerancia que presenten. El efecto letal de un factor específico, como es la contaminación, puede actuar en forma independiente o en concierto con otros factores.

Las especies que habitan en el ecosistema lagunar estuarino, están a menudo sujetas a "stress" ambiental debido a las fluctuaciones de los factores del medio, especialmente la salinidad y la temperatura. Cuando existe tal presión, se refleja en el aumento de la sensibilidad de los organismos, a presiones ulteriores. Así, en referencia a la contaminación por hidrocarburos, los animales serán tanto más sensibles cuanto más amplias sean las fluctuaciones ambientales.

En la contaminación por petróleo, la temperatura es relevante ya que afecta la solubilidad de los hidrocarburos en el agua y por consiguiente su toxicidad, así como la sensibilidad de los organismos al determinar las tasas de absorción, metabolismo y excreción de los hidrocarburos (Rice, et al., 1977; Wilber, 1971).

En esta investigación, la extracción de los hidrocarburos solubles en agua y la prueba de toxicidad se hicieron a 30°C, temperatura que prevalece en las costa mexicanas. Desafortunadamente existen pocas investigaciones sobre bioensayos realizados con temperaturas altas, quizás debido a que la mayoría de los derrames de petróleo han sucedido en zonas templadas y frías. En general se considera que las áreas tropicales presentan una mayor capacidad biótica para mermar los efectos de este tipo de contaminación (Lauglin y Neff, 1977; Tatem, et al., 1978).

En la Tabla III se muestran los resultados de supervivencia relativa de P. aztecus a las 24 y 48 h de exposición a diferentes diluciones de la fase acuosa de las mezclas petróleo-agua con proporciones 1:9, 2:8 y 3:7, así como el número de ejemplares utilizados en cada una de ellas.

En la mezcla 1:9 se observó una supervivencia del 66% en el intervalo de 24 y 48 h de exposición. Asimismo, en la proporción 2:8 de petróleo-agua se notó el mismo número de camarones sobrevivientes que el obtenido para la mezcla anterior en ambos lapsos.

Por el contrario, en la mezcla con relación 3:7 se encontraron diferencias en los resultados. En general esta especie tuvo una supervivencia alta (66-100%) en las diluciones del 1 al 50% de FSA, sin embargo el 100% de la fase acuosa de esta mezcla fue letal para todos los animales expuestos a ella.

De lo anterior se deduce que la CL_{50} para P. aztecus juvenil de la Laguna de Tamiahua, Ver., se encontró entre el 50 y 100% de FSA de la mezcla petróleo-agua con proporción 3:7 elaborada a la salinidad y temperatura experimentales (23 o/ooS y 30°C).

Los resultados de supervivencia relativa de P. aztecus después de 24 h de exposición a las diferentes concentraciones de FSA en condiciones ambientales de salinidad y temperatura constantes (23 o/ooS y 30°C) se presentan en la Tabla IV y Fig. 7.

En general se observó que la supervivencia de estos penéidos disminuyó

a medida que la concentración de FSA aumenta. En las concentraciones de 44.88 y 56.51% de FSA la supervivencia fue de 79.2 y 77% respectivamente y no se presentaron diferencias significativas entre ambos valores ($P = 0.7$).

En la dilución del 71.14% FSA la supervivencia decreció bruscamente hasta el 20% y la máxima concentración de la fracción soluble en agua (89.56%) fue tóxica para todos los organismos. Por lo tanto, la concentración letal para el 50% de los camarones de esta especie se encontró entre las diluciones del 56.51 y 71.14% de FSA de la mezcla crudo-agua de mar con proporción 3:7.

Los resultados muestran que la toxicidad del crudo sobre P. aztecus, aumenta 3.73 veces a medida que la concentración de FSA se incrementa. Esto probablemente se deba a que el petróleo crudo que se utilizó en esta investigación proviene del derrame del Ixtoc I, el cual se caracteriza por presentar un alto contenido de compuestos aromáticos tales como benceno, naftalenos, fenantrenos y sus respectivos homólogos metilados.

Al respecto, Botello y Castro (1980) reportan que después de 40 horas del derrame de este crudo, las muestras analizadas presentaban 52% de hidrocarburos aromáticos y al cabo de siete semanas aún persistían el 13%.

Anderson (1977) y Tatem (1978) reportan que los compuestos aromáticos del tipo de los naftalenos son letales para P. aztecus en concentraciones de 1 ppm o menores, condición que se puede presentar en cuerpos de agua someros, como son las numerosas lagunas costeras del litoral del Golfo de México.

Desde el punto de vista ecológico, esta mortalidad puede causar un decremento en la biomasa de la población y por ende una disminución en el flujo de energía del ecosistema afectado. Asimismo, se observó que estos peñidos mostraron hipersensibilidad a cualquier estímulo cuando se expusieron al contaminante. En las concentraciones más altas de éste, presentaron un patrón de nado en espiral, aumento en la actividad locomotora y a menudo reacciones de escape.

En la naturaleza, sólo se presentan estos niveles altos de contaminación en zonas cercanas a los derrames, sobre todo en las zonas tropicales, donde ocurren varios procesos que contribuyen al rápido intemperismo de los hidrocarburos como: disolución, evaporación, polimerización, emulsificación, fotooxidación y degradación biológica entre otros (Ahern, 1974).

Para la determinación de la concentración letal del 50% de los organismos expuestos a la FSA de la mezcla petróleo agua 3:7, se diseñó un programa computacional. Este programa que se detalla en el Apéndice permite medir tanto la concentración letal media (CL_{50}) como el intervalo de confianza de esta medición (95%). Asimismo, este programa permite determinar la variabilidad estadística inherente a este tipo de pruebas.

Los resultados se presentan en la Tabla V y Fig. 8. Ahora bien, como en general las respuestas de los organismos ante las alteraciones del medio, tienen distribución gaussiana, es posible esperar que la gráfica que represente la relación entre la tolerancia de los camarones y las diferentes concentraciones de FSA (%), expresada logarítmicamente, también lo sea. De esta gráfica se puede calcular el área bajo la curva normal (z),

cuyo valor que toma en cuenta la dispersión es:

$$z = (x - \mu) / \sigma$$

Ahora bien, si se grafica z vs. el \ln del % de FSA, se obtiene una recta (Fig. 8). Para este bioensayo la recta es:

$$z = -15.23 + 3.73(\ln \% \text{ FSA})$$

El coeficiente de regresión de la misma es $r = 0.95$ y el coeficiente de determinación es $r^2 = 0.91$.

El punto de intersección de la recta con el eje de las abscisas, se representa por μ y provee el valor (en logaritmos) de la concentración letal media (CL_{50}). En este caso este valor fue igual a 4.08, por lo tanto el $CL_{50} \mu = 59.33\% \text{ FSA}$.

Del valor inverso de la pendiente de la recta, es posible calcular la desviación del valor de CL_{50} . Para el 95% de los casos, resultó ser 2.61% FSA.

A partir de lo anterior se deduce que P. aztecus juvenil de la laguna de Tamiahua, Ver presenta la CL_{50} en 24 h para el 95% de los casos en $59.33 \pm 2.61\%$ de FSA de la mezcla petróleo-agua de mar con proporción 3:7 en condiciones ambientales de salinidad y temperatura constantes (23 o/ooS y 30°C). Este límite de confianza se debe interpretar con precaución, ya que sólo indica lo que se esperaría si la misma población de animales se volviera a probar bajo las mismas condiciones experimentales. Sin embargo, este dato es importante ya que por medio de él se pueden de-

terminar diferencias estadísticamente significativas.

Con los datos de la Tabla V, se construyó la Fig. 9 que muestra la relación entre la mortalidad teórica expresada en porcentaje y el ln de FSA. Asimismo se indica la mortalidad experimental. Al comparar ambos datos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.1$).

Después de 24 h de exposición a las diferentes diluciones del extracto del contaminante (FSA), se midió la presión osmótica de la hemolinfa de los camarones. Los resultados se presentan en la Tabla VI. En la Fig. 10 se expone el modelo de osmorregulación.

En la misma figura, se nota que estos peneidos aumentaron ligeramente la concentración de su medio interno de 598 a aproximadamente 627 mosm cuando se expusieron a las diluciones del 44.88 y 71.14% FSA. Sin embargo, en el 56.51% de la fracción soluble en agua, la hemolinfa de los camarones presentó una presión osmótica mínima (567.3 mosm). Esta disminución fue significativa con respecto a la obtenida en 44.88% de la misma fase acuosa ($P < 0.05$). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos control y experimental ($P > 0.05$).

Este hallazgo concuerda con los datos reportados por Cox (citado por Anderson, 1974). Este autor trabajó con P. aztecus adultos, expuestos a 20% de FSA de petróleo refinado No. 2 y en una combinación de 20 o/ooS y 20°C.

Es interesante destacar que la concentración osmótica del medio externo

disminuye a medida que la concentración de FSA aumenta, esto probablemente se deba a que los hidrocarburos en solución reaccionan con los elementos del agua de mar lo que originaría un decremento en la concentración osmótica.

Ahora bien, si el medio interno no experimenta cambios al disminuir la concentración osmótica del medio externo, es dable suponer que los camarones han puesto en juego mecanismos osmorregulatorios. Además se observó gran cantidad de secreciones mucosas, en las cámaras experimentales. Este también es un mecanismo que usan los animales como un medio de impermeabilización de sus superficies corporales (Goldacre, 1968).

Neff, et al., (1976), también reportan que los camarones pueden excretar activamente los compuestos aromáticos cuando éstos alcanzan altas concentraciones en los tejidos del animal. Esto ocurre sólo en la primera hora de exposición al medio contaminado.

Dado que la probabilidad de muerte experimental fue menor que la teórica para el 56.51% FSA, posiblemente esto se pueda atribuir a los mecanismos señalados puestos en juego por los penéidos.

La mayor parte de los estudios de toxicidad aguda del petróleo sobre animales marinos indican que en general las larvas de todas las especies son más sensibles a la FSA de petróleos crudos y refinados que los adultos. Los gasterópodos se clasifican como los más resistentes y los bivalvos y crustáceos tanto pelágicos como bentónicos, se catalogan en forma intermedia.

Sin embargo, existe dificultad para interpretar y comparar los resultados de estos estudios debido a que las técnicas experimentales son diversas. Se han probado petróleos crudos y refinados con diferente composición, las especies que utilizan no son iguales, la mayoría de los trabajos carecen de análisis cualitativo y cuantitativo de los medios contaminados a probar después de su preparación y aireación, falta de correlación entre la concentración del contaminante, su contenido en los tejidos de los organismos y la respuesta fisiológica a determinar y desconocimiento de las tasas de recuperación y/o liberación del contaminante después de la exposición.

Por tal motivo, es necesario llevar a cabo estudios de toxicidad agudos con especies de litorales mexicanos y petróleos, crudos y refinados, producidos en el país. Esto, aunado a un monitoreo adecuado del ambiente, permitiría conocer las concentraciones subletales a las que están expuestos los organismos en condiciones naturales y en una etapa posterior se expondrían a ellas en forma crónica para evaluar su respuesta fisiológica.

Esto conllevaría a establecer los niveles de seguridad mínimos requeridos para mantener el equilibrio ecológico de las zonas costeras y poder explotar en forma óptima sus recursos.

En conclusión, en este trabajo se da el lineamiento para llevar a cabo un bioensayo en lo que respecta a la supervivencia de Penaeus aztecus de la Laguna de Tamiahua, Veracruz.

Tal directriz de trabajo contempla el hecho que esta población de camarones en el Golfo de México contiene razas fisiológicas dependientes de la latitud. Así, fue necesario probar para los organismos de Tamiagua las respuestas fisiológicas osmorregulatorias primero, para comprobar el punto isosmótico de la especie, ya que era esta situación óptima para los animales, la requerida para investigar el impacto de la fracción soluble del petróleo crudo sobre los camarones de la especie señalada.

Se obtuvo un patrón osmorregulatorio típico de los peneidos de los sistemas estuarinos, cuyo punto isosmótico fue de 23 o/oo S.

Se determinó la concentración letal media CL_{50} para *P. aztecus* expuestos a varias diluciones del extracto de crudo realizado en proporción 3:7. Esta CL_{50} resultó ser $59.33 \pm 2.61\%$ de FSA de la mezcla petróleo-agua de mar con proporción 3:7 en condiciones ambientales de salinidad y temperatura constantes (23 o/ooS y 30°C).

Para poder calcular esta concentración letal media se implementó un programa computacional en base al análisis probit expuesto por Finney (1971). Fue necesario llevar a cabo un experimento simulado para conocer tanto la confiabilidad de los datos obtenidos como la del análisis estadístico empleado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ahearn, D.G., 1974. The sources, fates and effects of oil in the seas. In: Pollution and physiology of marine organisms, F. J. and W. B. Vernberg, ed., Academic Press, New York.
- Anderson, J. W., 1977. Responses to sublethal levels of petroleum hydrocarbons: Are they sensitive indicators and do they correlate with tissue contamination? In: Proceedings, NOAA-EPA Symposium on fate and effects of petroleum hydrocarbons, D. A. Wolfe, ed., Pergamon Press, Oxford.
- Anderson, J. W., J. M. Neff, B. A. Cox, H. E. Tatem and G. M. Hightower, 1974. Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity on estuarine crustaceans and fish, Marine Biol. 27, 75.
- Anderson, J. W., J. M. Neff, B. A. Cox, H. E. Tatem and G. M. Hightower, 1974. The effects of oil on estuarine animals: toxicity, uptake and depuration, respiration In: Pollution and physiology of marine organisms, F. J. and W. B. Vernberg, ed., Academic Press, New York.
- Ayala-Castañares, A., R. Cruz, A. García-Cubas, Jr. y L. R. Segura, 1969. Síntesis de los conocimientos sobre la geología marina de la Laguna de Tamiahua, Veracruz, México. In: Lagunas Costeras, un Simposio. Mem. Simp. Intern. Lagunas Costeras. UNAM-UNESCO. Nov. 28-30, 1967. México, D. F.:39-48.
- Barba, T. J. F. y J. Sánchez, 1981. Abundancia, distribución y estructura de la comunidad ictioplanctónica, en la Laguna de Tamiahua, Veracruz a través de un ciclo anual. Tesis de licenciatura en Biología. Fac. de Ciencias, UNAM.
- Bingham, E., A. W. Harton and R. Tye, 1965. The carcinogenic potency of certain oils, Arch. Environ. Health. 10:449-451.
- Botello, A. V., 1978. Presencia de hidrocarburos fósiles en ecosistemas estuarinos del Golfo de México, Rev. Biol. Trop. 26(Supl. 1):135-151.
- Botello, A. V., 1980. Cuantificación de un derrame petrolero ocurrido en la Laguna de Términos, Campeche, México, 1976, An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México, 7(1):169-176.
- Botello, A. V. and E. F. Mandelli, 1978. Distribution of n-paraffins in seagrasses benthic algae, oysters and recent sediments from Términos Lagoon. Campeche, México, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 19(2): 162-170.
- Botello, A. V. and E. F. Mandelli, 1979. Distribution of normal paraffins in the leaves of Thalassia testudinum from Gulf of Mexico, Bull. Mar. Sci. 29(3):436-440.

- Botello, A. V. y S. Castro-Gessner, 1980. Chemistry and natural weathering of various crude oil fractions from the Ixtoc-1 spill, In: Proceedings of a Symposium on Preliminary results from the September 1979 researcher/pierce Ixtoc-I cruise, Key Biscayne, Florida, June 9-10, 1980, U. S. Department of Commerce.
- Bravo, H., S. Salazar, A. V. Botello y E. F. Mandelli, 1978. Polyaromatic hydrocarbons in oysters from coastal lagoons along the eastern coast of the Gulf of Mexico, Mexico, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19: 171-176.
- Cairns, J., Jr., 1980. Environmental analysis, In: Fisheries management, R. T. Lackey and L. A. Nielsen, ed., Blackwell Scientific Publications, London, p. 375-402.
- Canagaratnam, P., 1959. Growth of fishes in different salinities, J. Fish. Res. Board Can. 16:121-130.
- Cradoock, D. R., 1977. Acute toxic effects of petroleum on arctic and sub-arctic marine organisms, In: Effects of petroleum on arctic and sub-arctic marine environments and organisms, Vol. II, D. C. Malins, ed., Academic Press, New York.
- Dawson, C. E., 1957. Studies on the making of commercial shrimp with biological stains, Special Scientific Report Fish. 231:539-548.
- Díaz, F. y J. R. Latournerié, 1980. Factores fisiológicos que afectan la supervivencia y el metabolismo energético de dos especies de peneidos (Penaeus aztecus y P. setiferus) de la Laguna de Mandinga, Veracruz. Tesis de licenciatura en Biología. Fac. de Ciencias, UNAM.
- Dunning, A. and C. W. Major, 1974. The effect of cold sea water extracts of oil fractions upon the blue mussel, Mytilus edulis, In: Pollution and physiology of marine organisms, F. J. and W. B. Vernberg, ed., Academic Press, New York.
- Espina, A. S., A. Muñoz, R. Villalobos, F. Díaz, J. R. Latournerié y A. Sánchez, 1976. Metabolismo respiratorio y osmoconcentración de dos especies de peneidos de la Laguna de Mandinga, Ver. Memorias del Simposio sobre Biología y Dinámica de Poblacional de Camarones, Guaymas, Son., Méx. del 8 al 13 de agosto de 1976, p. 27-50.
- Finney, D. J., 1971. Probit analysis, 2nd. edition, Cambridge University Press, London, pp. 333.
- Finney, D. J., 1978. Statistical method in biological assay, 3rd. edition, Charles Griffin & Company Ltd., London, pp. 508.
- García, S. S., 1975. Los recursos pesqueros regionales de Tuxpam, Ver. a Tampico, Tamps. y su posible industrialización. Inst. Nal. de Pesca. INP/SI: 127. pp. 28.
- Goldacre, R. J., 1968. Effects of detergents and oils on the cell membrane, In: The biological effects of oil pollution on littoral communities, J. D. Carthy & D. R. Arthur, ed., Field Studies Council, London. pp. 131-137.

- Gundlach, R. E., 1977. Oil tanker disasters, Environment 19(9):16-27.
- Heitz, J. R., L. Lewis, J. Chambers and J. D. Yarbrough, 1974. The acute effects of empire mix in oysters, shrimp and mullet, In: Pollution and physiology of marine organisms, F. J. and W. B. Vernberg, ed., Academic Press, New York.
- Hoel, P. G., S. C. Port, C. J. Stone, 1971. Introduction to statistical theory, Houghton Mifflin Company, Boston, U.S.A., pp. 35-42.
- Johnson, F. G., 1977. Sublethal biological effects of petroleum hydrocarbon exposures: bacteria, algae and invertebrates, In: Effects of petroleum on arctic and subarctic marine environments and organisms, Vol. II, D. C. Malins, ed., Academic Press, New York.
- Lankford, R. R., 1977. Coastal lagoons of Mexico. Their origin and classification, In: Estuarine processes circulation, sediments and transfer of material in the estuary, L. E. Cronin, ed., Academic Press Inc., New York, 2:182-215.
- La Roche, G., R. Eisler and C. M. Tarzwell, 1970. Bioassay procedures for oil and dispersant toxicity evaluation, J. Wat. Pollut. Control Fed. 42: 1982-1989.
- Latournerié, J. R., A. Sánchez, F. Díaz y S. Espina, 1980. Evidencias fisiológicas de la existencia de razas en dos poblaciones de *Penaeus aztecus* del Golfo de México. IV Congr. Nal. Zool. Res:79.
- Laughlin, R. B., Jr. and J. M. Neff, 1977. Interactive effects of temperature, salinity shock and chronic exposure to No. 2 fuel oil on survival, development rate and respiration of the horseshoe crab, Limulus polyphemus, In: Proceeding, NOAA-EPA Symposium on fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms, D. A. Wolfe, ed., Pergamon Press, Oxford, p. 182-191.
- Lockwood, A. P., 1962. The osmoregulation of Crustacea, Biol. Rev. 37: 257-303.
- NAS, 1975. Petroleum in the marine environment, National Academy of Science, Workshop on inputs, fates and the effects of petroleum in the marine environment, Airlie House, Virginia, pp. 107.
- Neff, J. M., D. Dixit, B. A. Cox, and J. W. Anderson, 1976. Accumulation and release of petroleum derived aromatic hydrocarbons by four species of marine animals, Mar. Biol. 38:279-289.
- Panikkar, N. K., 1968. Osmotic behavior of shrimps and prawns in relation to their biology and culture, FAO Fish. Rep. 57(3):527-538.
- Patten, B. G., 1977. Sublethal biological effects of petroleum hydrocarbon exposures: fish, In: Effects of petroleum on arctic and subarctic marine environments and organisms, Vol. II, D. C. Malins, ed., Academic Press, New York.

- Rice, S. D., J. W. Short and J. F. Karinen, 1977. Comparative oil toxicity and comparative animal sensitivity, In: Proceedings, NOAA-EPA Symposium on fate and effects of petroleum hydrocarbons, D. A. Wolfe, ed., Pergamon Press, Oxford.
- Sánchez, A. Z., 1979. Efecto de la salinidad y temperatura sobre el balance hidrosalino de los peneidos de la Laguna de Mandinga, Veracruz. Tesis de licenciatura en Biología, Fac. de Ciencias, UNAM, México, 31 pp.
- Stegeman, J. J., 1974. Hydrocarbons in shellfish chronically exposed to low levels of fuel oil, In: Pollution and physiology of marine organisms, F. J. and W. B. Vernberg, ed., Academic Press, New York.
- Struhsaker, J. W., M. B. Eldridge and T. Echeverría, 1974. Effects of benzene (a water-soluble component of crude oil) on eggs and larvae of Pacific herring and northern anchovy, In: Pollution and physiology of marine organisms, F. J. and W. B. Vernberg, ed., Academic Press, New York.
- Tatem, H. E., B. A. Cox and J. W. Anderson, 1978. The toxicity of oils and petroleum hydrocarbons to estuarine crustaceans, Estuarine and Coastal Marine Science 6:365-373.
- Teal, J. M., 1977. Food chain of hydrocarbons, In: Proceedings, NOAA-EPA Symposium on fate and effects of petroleum hydrocarbons, D. A. Wolfe, ed., Pergamon Press, Oxford.
- Venkataramiah, A., et al., 1974. Studies on the effects of salinity and temperature on the commercial shrimp Penaeus aztecus Ives, with special regard to survival limits, growth, oxygen consumption and ionic regulation. U. S. Army Corps. Engrs. Waterways Exp. Stn. Vicksburg, Mississippi. Contract Rep. H-74-2. 134 pp.
- Vernberg, W. B. and F. J. Vernberg, 1972. Environmental physiology of marine animals, Springer-Verlag, Berlin and New York.
- Villalobos, F. A., J. A. Cabrera, S. Gómez, V. Arenas, F. Manrique, A. Reséndez y G. de la Lanza, 1968. Informe final de las investigaciones realizadas en la laguna de Tamiahua. Univ. Nal. Autón. México, Inst. Biol. (Informe inédito).
- Wilber, C. G., 1971. The biological aspects of water pollution. Charles C. Thomas-Publisher, Springfield, Illinois, U.S.A. p. 31-42.
- Williams, A. B., 1960. The influence of temperature on osmotic regulation in two species of estuarine shrimps (Penaeus), Biol. Bull. 19(3): 560-571.

T A B L A S Y F I G U R A S

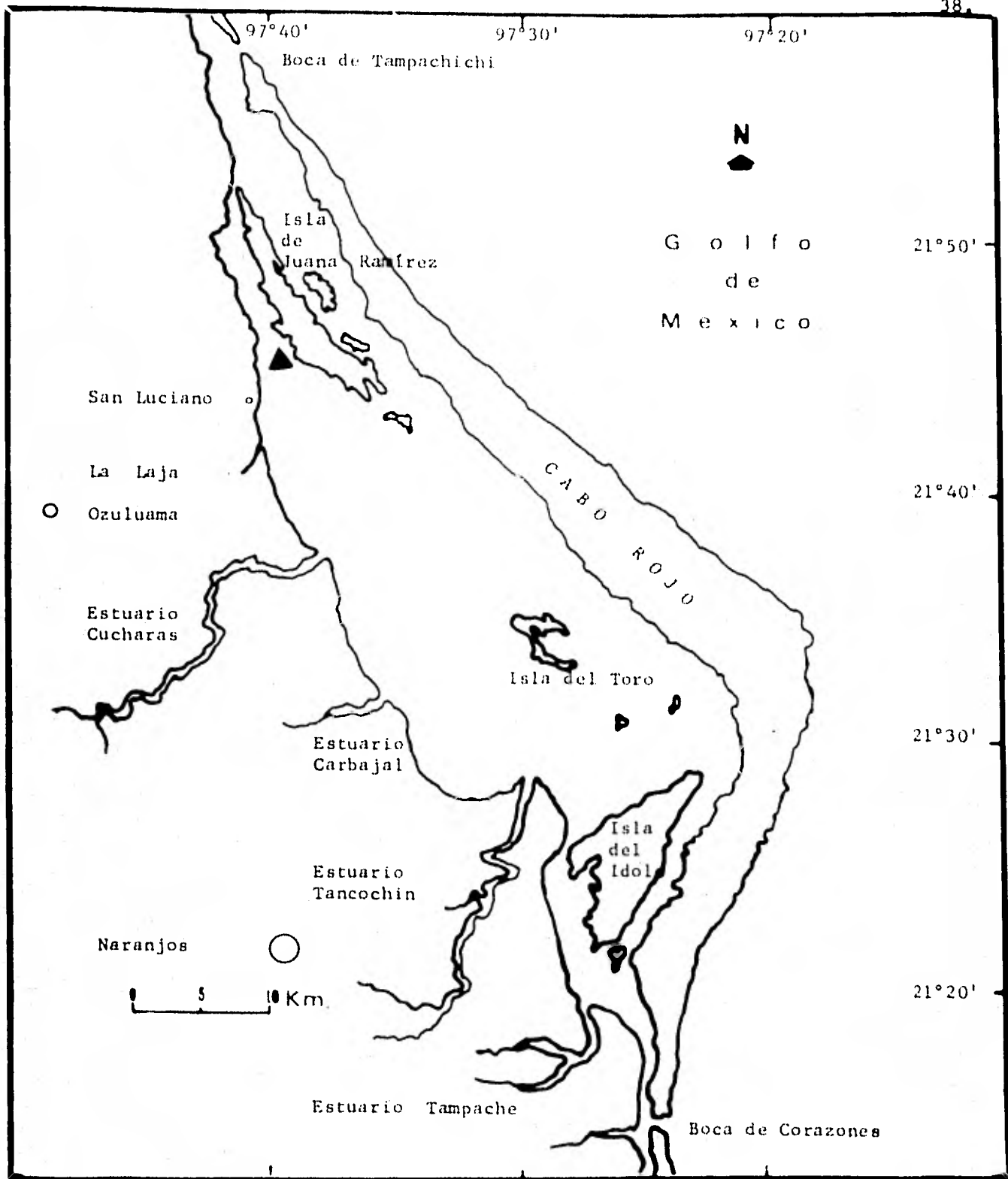


Fig. 1. LAGUNA DE TAMIAHUA, VERACRUZ.

▲ Zona de colecta.

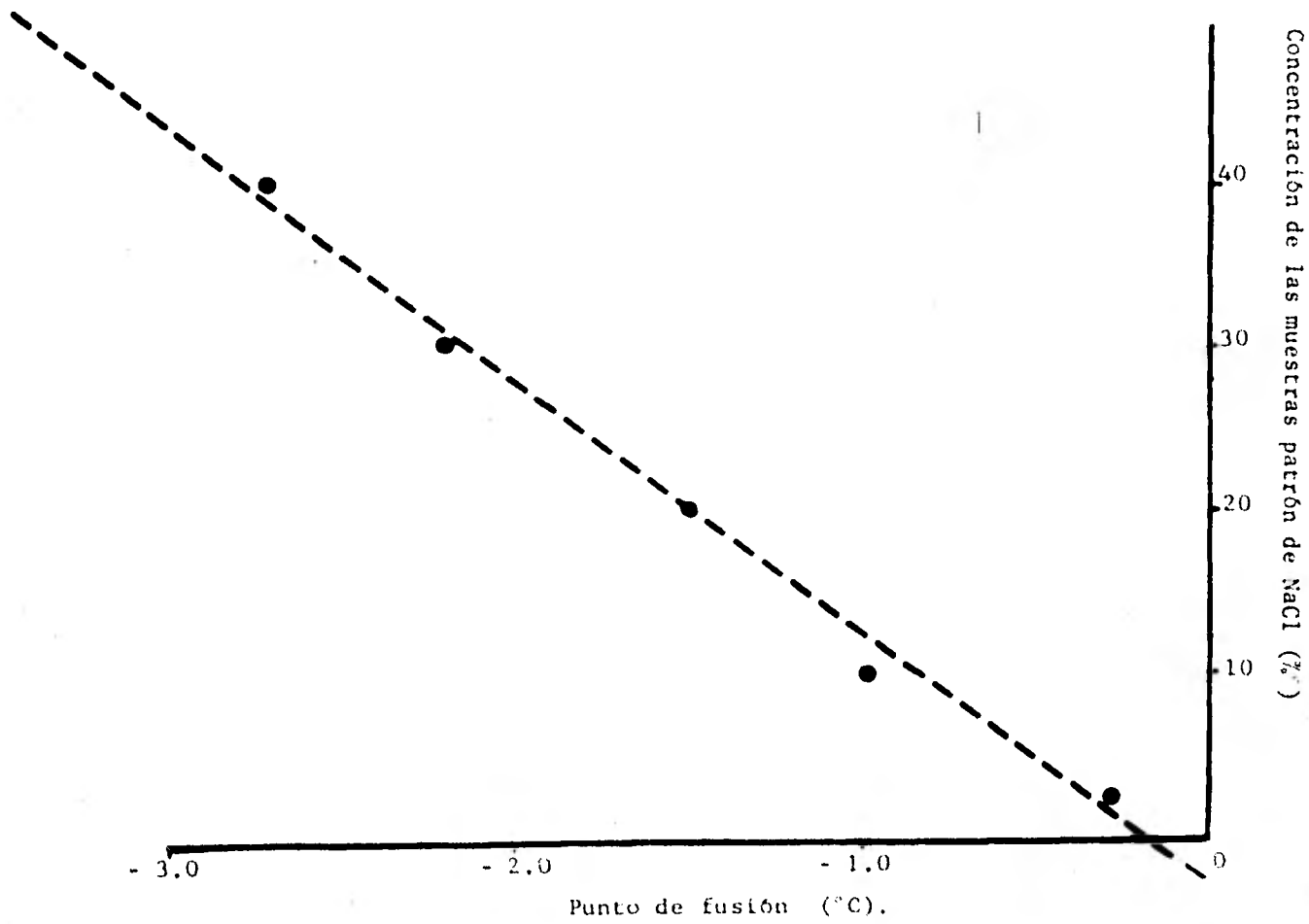


Fig. 2. Recta de regresión de las muestras de NaCl. $y = -1.99 + -14.97 (x)$

$r = 0.99$

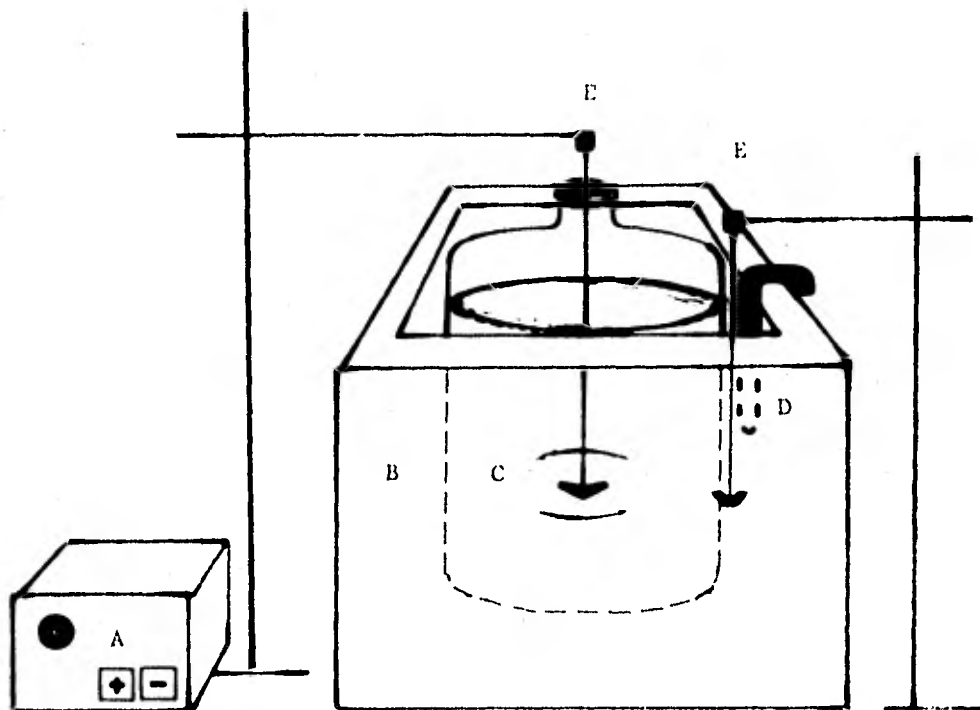


Fig. 3 Dispositivo para la agitación de la mezcla agua-petróleo.
A. Fuente de energía; B. Baño de agua; C. Recipiente con mezcla
agua-petróleo; D. Calentador; E. Motores de agitación.

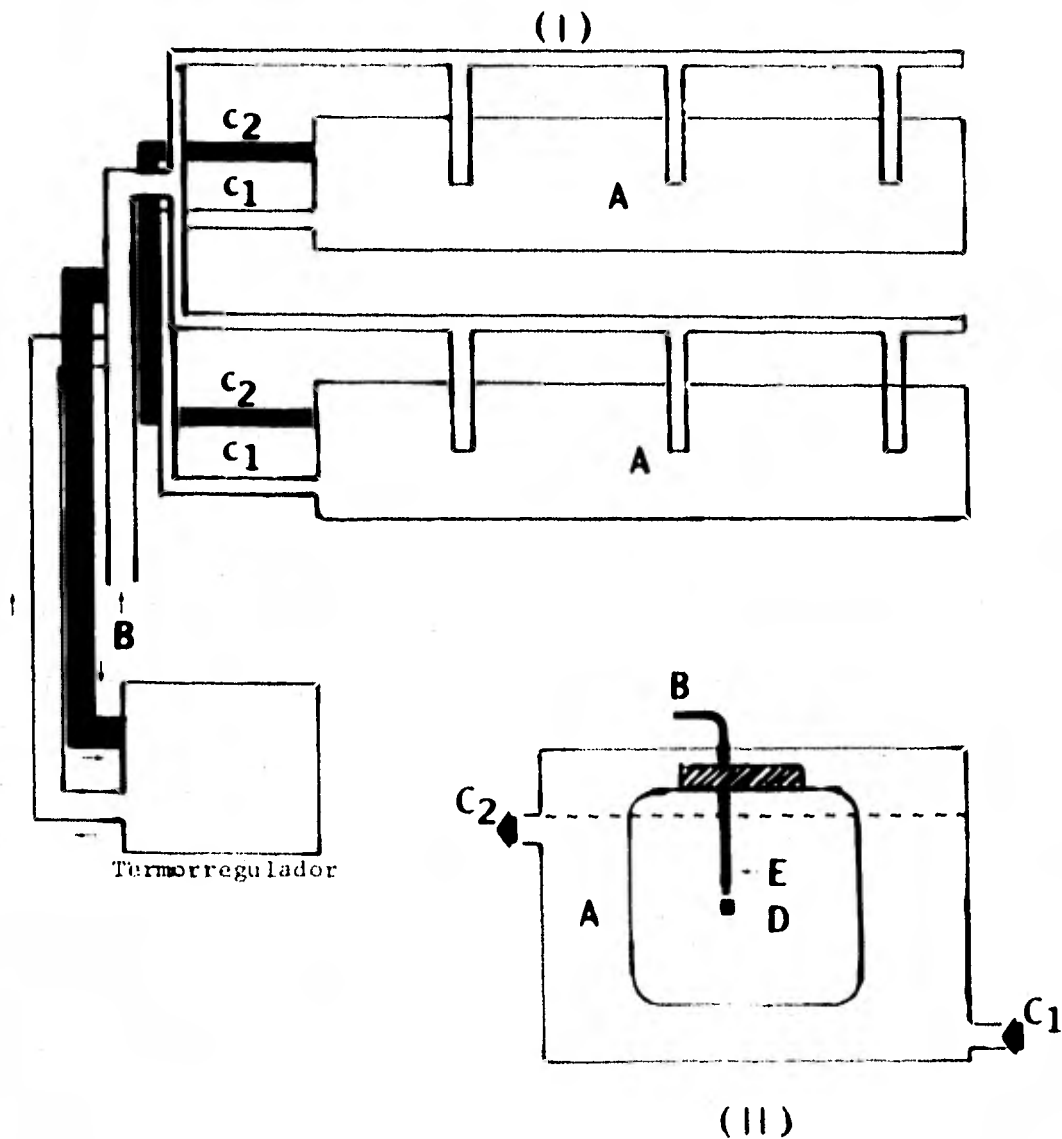


Fig. 4 Dispositivo Experimental.

(I) Sistema de aireación y termoregulación : A. Baño de agua - circulante con cámaras experimentales y controles; B. Tubería conectada al sistema de aireación; C₁ entrada y C₂ salida del agua. (II) Cámaras: D. Cámaras experimentales y controles; E. Piedra de aireación.

Tabla I. Supervivencia relativa de P. aztecus en diferentes condiciones de salinidad (‰ AM) a temperatura constante (30°C) durante 48 h de adaptación.

Tiempo (h)	Salinidad (‰ AM)				
	10	25	50	75	100
0	100	100	100	100	100
6	75	100	95	100	100
12	-	100	95	100	95
18	50	100	95	100	95
24	50	100	95	100	95
30	50	100	90	100	95
36	50	100	-	100	95
42	50	100	85	100	95
48	50	100	85	100	95

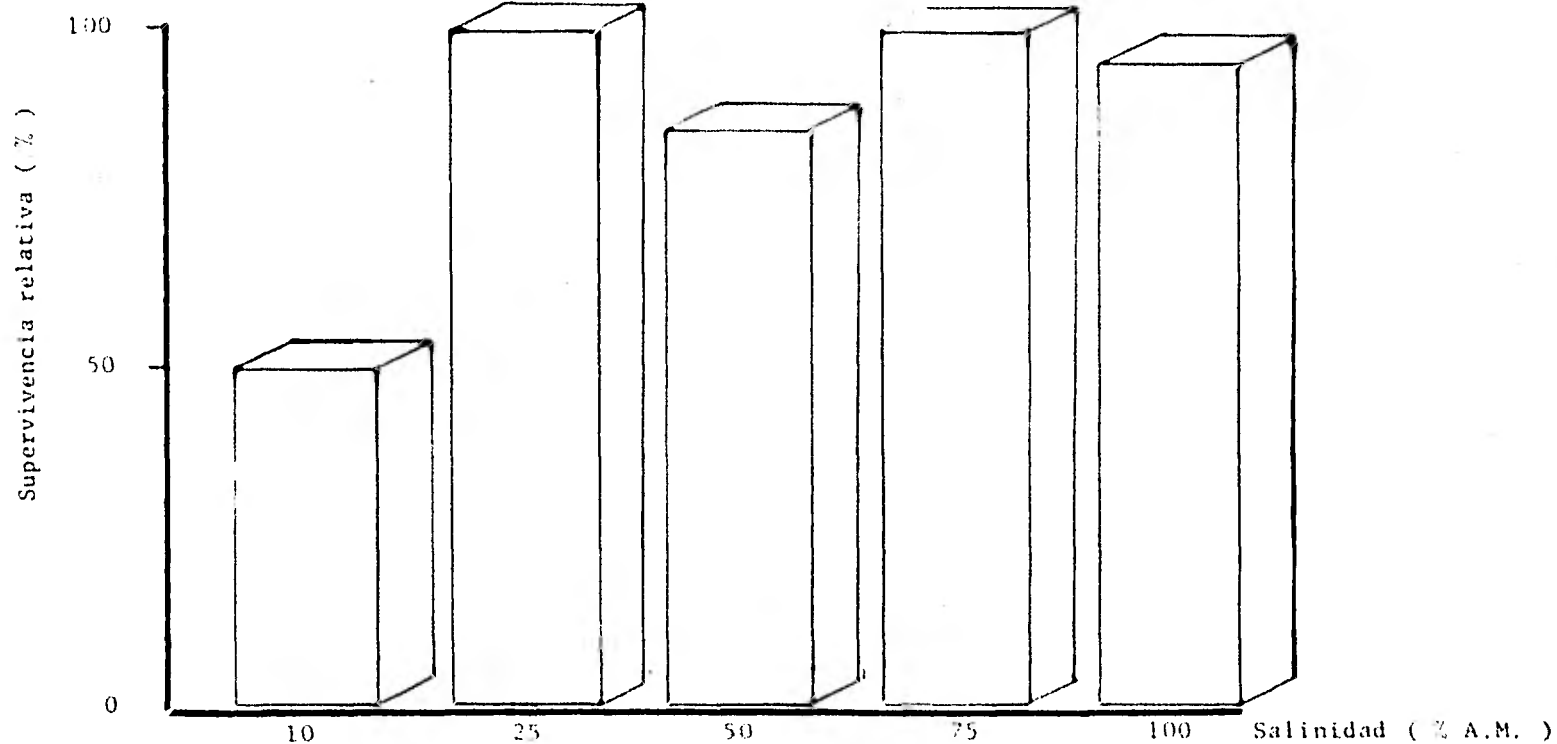


Fig.5. Supervivencia relativa de *Penaeus aztecus* de la laguna de Tamiahua, Ver. después de 48 h de exposición a diferentes salinidades y temperatura constante (30°C.).

Tabla II. Concentración osmótica del medio interno de Penaeus aztecus después de 48 h de adaptación a diferentes salinidades y temperatura constante (30°C). Media \pm E.E. N = número de ejemplares utilizados.

N	% AM	Medio interno (‰ NaCl)	Peso (g)
10	10	15.10 \pm 0.00	4.34 \pm 0.21
20	25	17.30 \pm 0.16	3.74 \pm 0.11
17	50	20.44 \pm 0.10	6.12 \pm 0.41
20	75	23.38 \pm 0.00	6.28 \pm 0.56
19	100	29.65 \pm 0.22	6.26 \pm 0.26

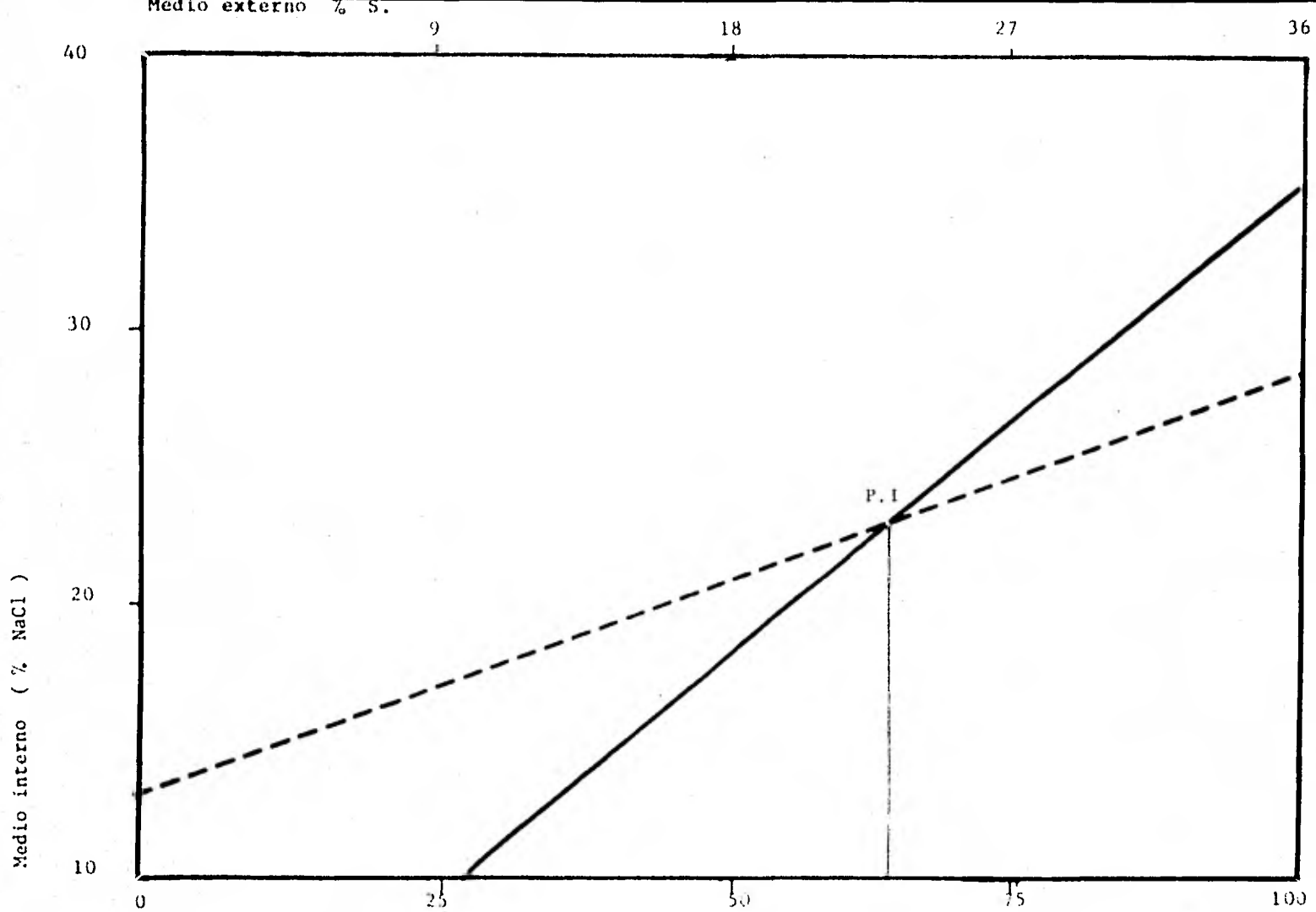


Fig. 6 Regulación osmótica del medio interno de *Penaeus aztecus* después de 48 h de adaptación a diferentes concentraciones de salinidad y temperatura constante (30°C).

- Curva de isosmoticidad
- - - Medio interno
- P.I. Punto isosmótico

Tabla III. Supervivencia relativa de *Penaeus aztecus* a las 24 y 48 h de exposición a diferentes mezclas de petróleo-agua de mar en condiciones de salinidad y temperatura constantes (23‰ S y 30°C).

N = número de ejemplares utilizados.

Mezcla	FSA (%)	N	Supervivencia (%)		
			t ₀	t ₂₄	t ₄₈
1:9	100.0	3	100.0	66.6	66.6
2:8	100.0	6	100.0	66.6	66.6
2:8	80.0	3	100.0	66.6	66.6
2:8	60.0	3	100.0	66.6	66.6
3:7	100.0	3	100.0	0.0	0.0
3:7	50.0	3	100.0	66.6	66.6
3:7	25.0	3	100.0	100.0	66.6
3:7	12.5	3	100.0	100.0	100.0
3:7	6.3	3	100.0	66.6	66.6
3:7	3.1	3	100.0	100.0	100.0
3:7	1.0	3	100.0	100.0	100.0
Controles	-	12	100.0	100.0	100.0

Tabla IV. Supervivencia relativa de *Penaeus aztecus* después de 24 h de exposición a diferentes diluciones de la fracción soluble en agua (FSA) de una mezcla petróleo-agua con proporción 3:7.

N = número de organismos utilizados. Media \pm E.E.

FSA (%)	N	Supervivencia (%)	Peso (g)
Control	39	100.0	2.61 \pm 0.15
44.88	24	79.2	3.66 \pm 0.28
56.51	22	73.3	4.27 \pm 0.42
71.14	20	20.0	4.32 \pm 0.25
89.56	18	0.0	3.70 \pm 0.28

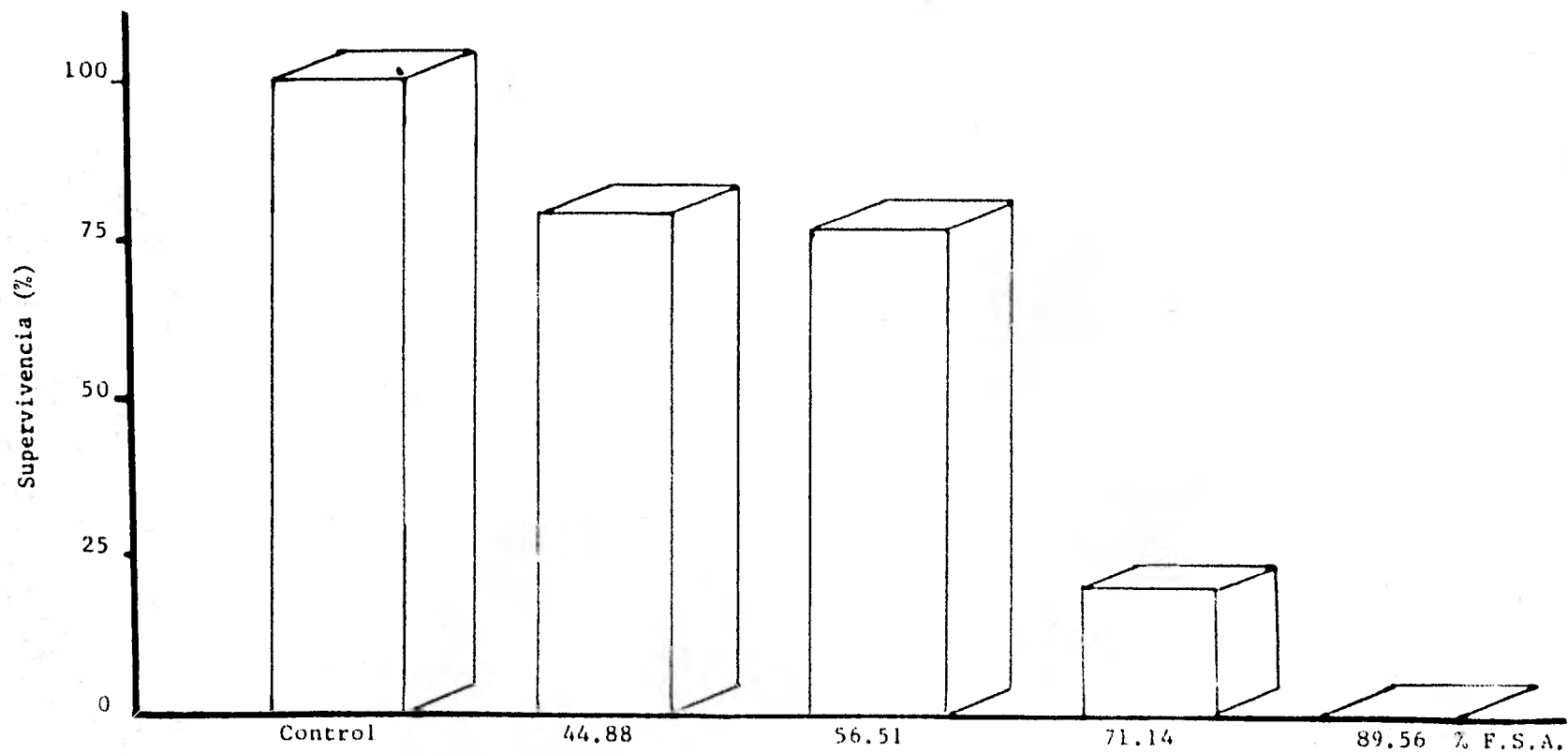


Fig. 7. Supervivencia relativa de *Penaeus aztecus* después de 24 h de exposición a diferentes concentraciones de la fracción soluble en agua (FSA) a salinidad y temperatura constante (23 ‰S y 30°C).

Area bajo la curva normal de mortalidad ($z = (x - \mu) / \sigma$)

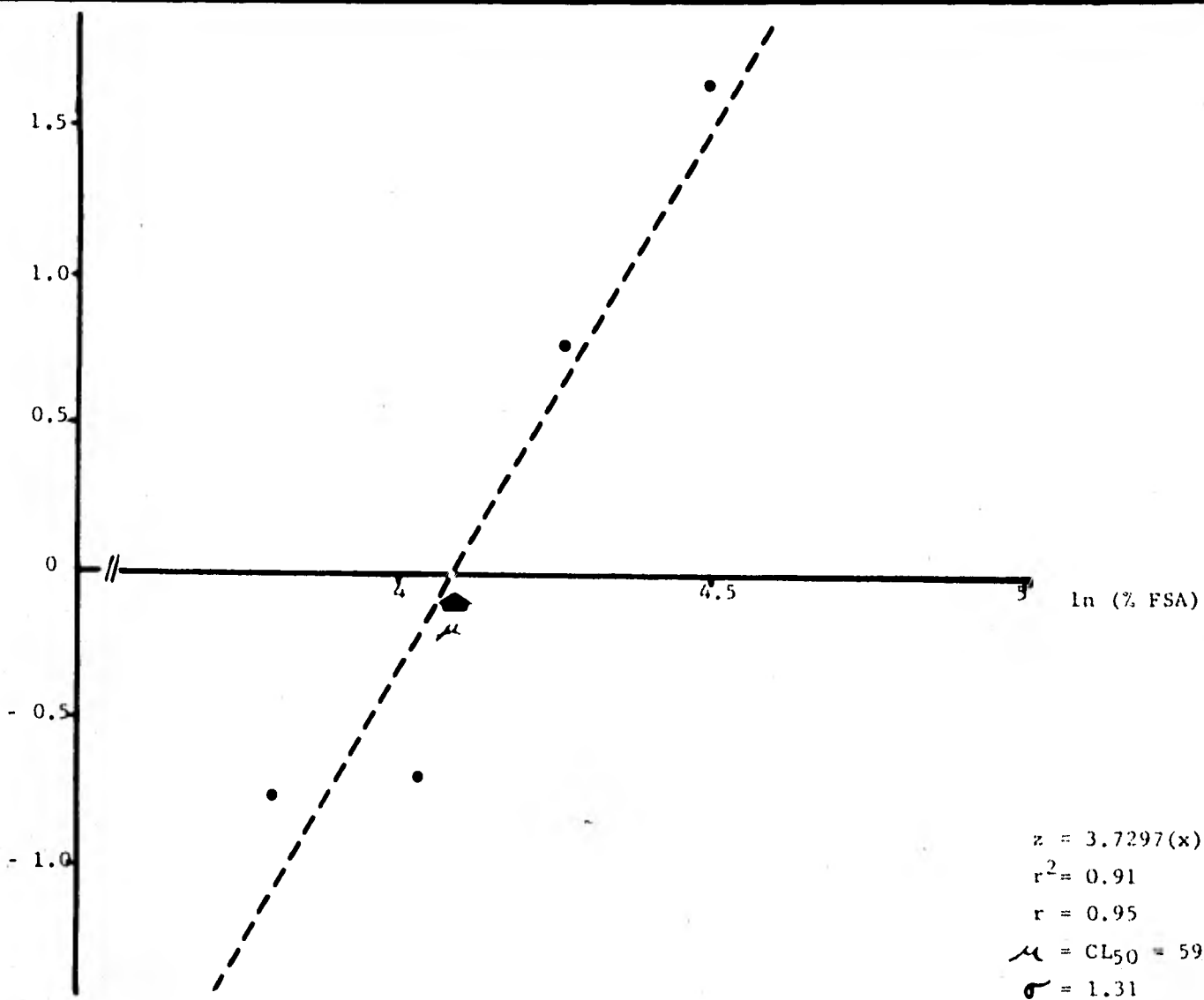


Fig. 8 Relación entre las unidades de desviación (z) de la distribución normal de mortalidad de Penaeus aztecus y el logaritmo natural de FSA.

Tabla V. Probabilidad de muerte teórica y experimental de Penaeus aztecus después de 24 h de exposición a diferentes concentraciones de FSA.

ln = logaritmo natural, N = número de ejemplares utilizados

FSA (%)	N	ln % FSA	Probabilidad de muerte (%)	
			Experimental	Teórica
44.88	24	3.8040	23.07	14.89
56.51	22	4.0344	25.00	42.79
71.14	20	4.2646	77.27	75.08
89.56	18	4.4949	95.00	93.77

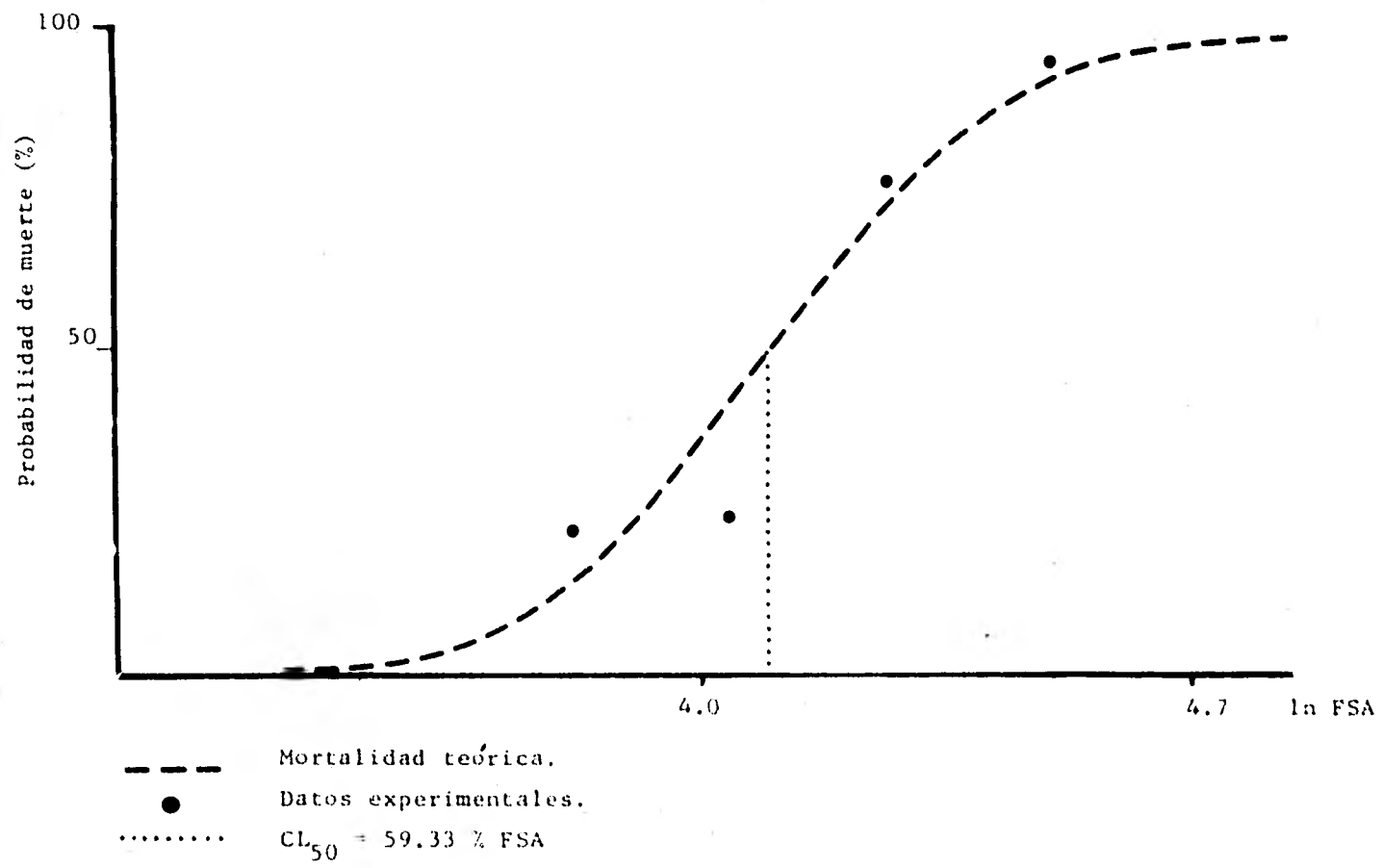


Fig. 9 Relación entre la mortalidad de Penaeus aztecus después de 24 h de exposición y diferentes concentraciones de FSA.

Tabla VI. Concentraciones osmóticas de la hemolinfa de P. aztecus y el medio externo con diferentes diluciones de FSA a las 24 h de exposición. Media \pm E.E. N = número de muestras.

FSA (%)	N	Concentración osmótica (mosm)	
		Hemolinfa	Medio externo
Control	13	598.43 \pm 9.23	658.32 \pm 34.84
44.88	9	626.95 \pm 8.18	678.95 \pm 34.84
56.51	12	567.33 \pm 21.00	657.30 \pm 34.84
71.14	3	628.40 \pm 24.30	643.35 \pm 34.84
89.56	-	-	564.00 \pm 34.84

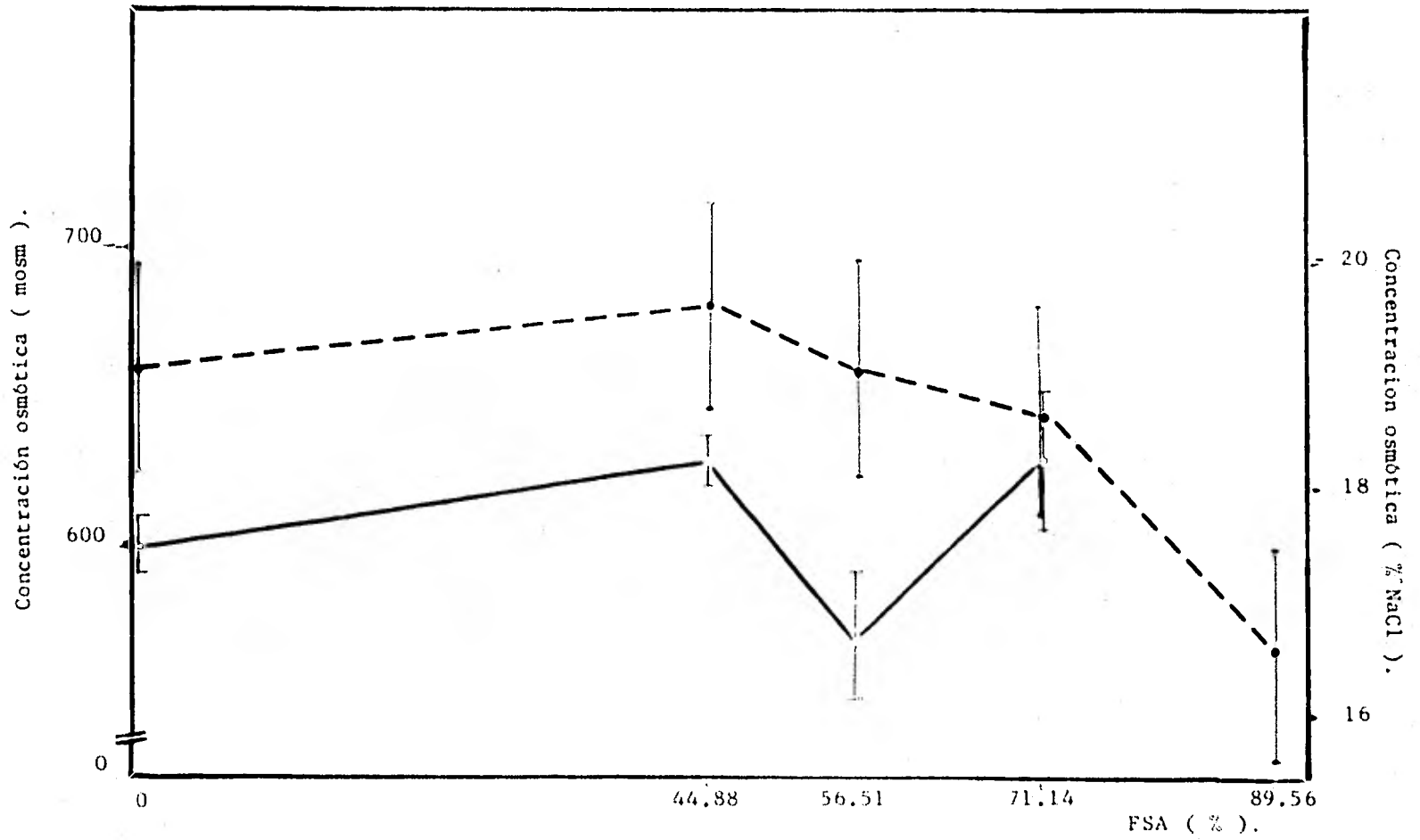


Fig. 10. Regulación osmótica del medio interno de Penaeus aztecus en relación al medio externo, después de 24 h de exposición a diferentes concentraciones de FSA.

— Medio interno
 - - - Medio externo

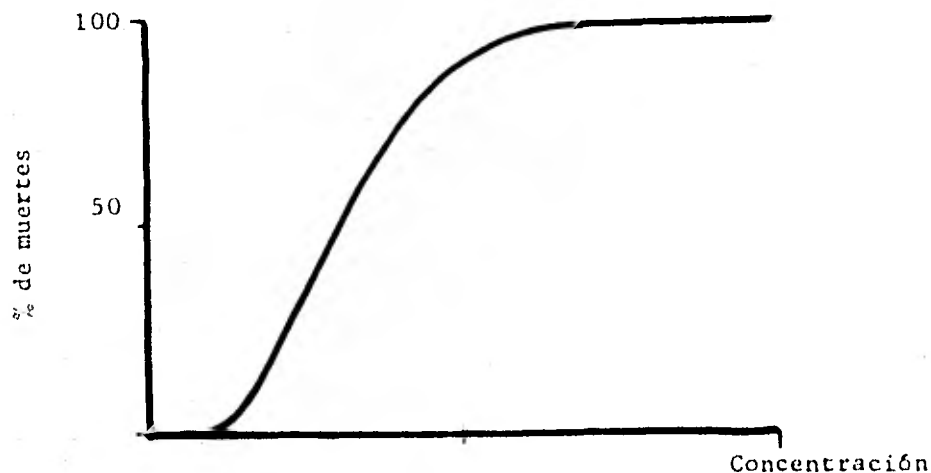
A P E N D I C E

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION LETAL
PARA EL 50% DE LOS INDIVIDUOS (CL_{50}):
PROGRAMA DE COMPUTACION

En los ensayos de toxicidad, especialmente los destinados a determinar las llamadas "dosis y concentraciones letales" de ciertas sustancias, la respuesta biológica que se estudia corresponde a las del tipo "todo o nada".

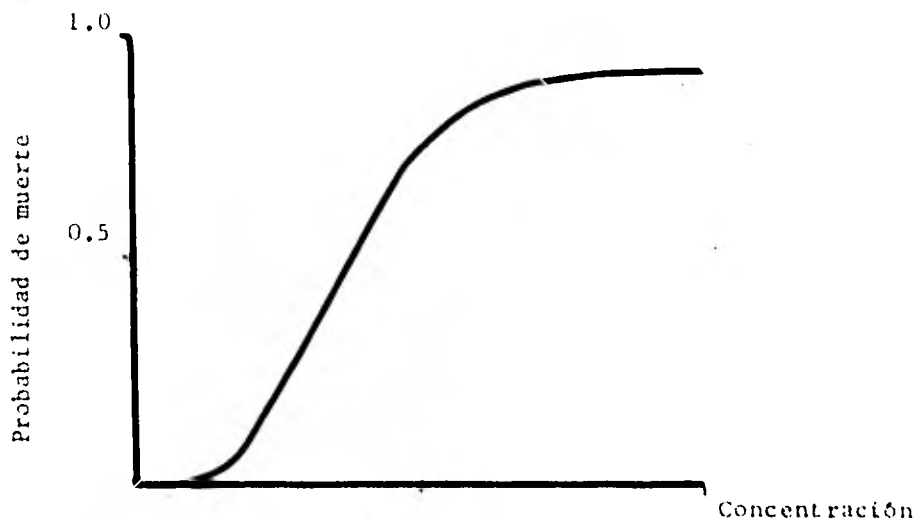
El análisis de los datos en este tipo de experimentos se hace generalmente a través de los llamados "análisis probit" (Finney, 1971).

Un resultado experimental típico consiste en una tabla con dos columnas: una contiene a las concentraciones administradas y la otra contiene el porcentaje de muertes de una población de tamaño dado. Si estos resultados se representan gráficamente se obtiene la siguiente relación:



Esta curva se puede interpretar como una función de distribución probabilística.

Recuérdese que si $F(t)$ es la función de distribución de una variable aleatoria x , entonces $F(t)$ da la probabilidad de que la variable x tome un valor $x \leq t$.



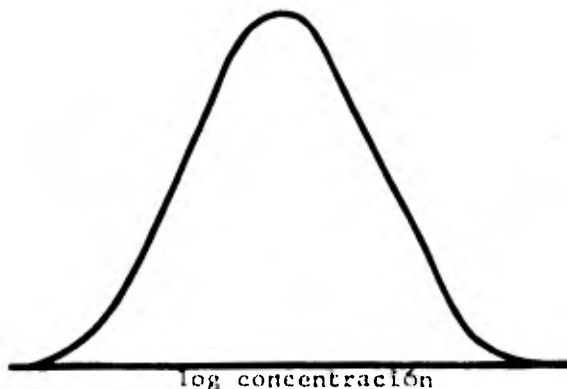
Esencialmente lo que se determina en forma experimental es la probabilidad de muerte ante una concentración dada.

Si se conociera en detalle la curva $F(D)$, no se necesitaría ningún tipo de análisis complicado para conocer la dosis letal para el 50% de los individuos (CL_{50}), ya que bastaría trazar una recta horizontal que pase por 0.5 en el eje de las ordenadas y luego, desde su intersección con la curva, bajar al eje de las abscisas (concentración).

En la práctica no se conoce exactamente a $F(D)$, sin embargo Fisher (referido en Finney, 1971) encontró que si en lugar de usar las concentra-

ciones, se toman sus logaritmos $x = \log(D)$, entonces la curva de distribución $F(x)$ es gaussiana. Esto quiere decir que

$$F(x) = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}\right) dx$$



En el llamado análisis probit, lo que se hace es aceptar que la distribución de las frecuencias de la tolerancia ante un tóxico es gaussiana y luego determinar los valores de los parámetros μ y σ que especifiquen completamente a esta distribución.

Toda la teoría del análisis supone un número "razonable" de puntos experimentales, digamos un número mayor de diez. Esto no es siempre fácil de conseguir, sobre todo si se trabaja con tóxicos disponibles sólo en cantidades limitadas, como fue en el presente trabajo. Ante esta dificultad metodológica se hizo lo siguiente.

Se escribió un programa de computación que simuló una población de camarones cuya tolerancia a un tóxico tiene una distribución normal en los parámetros:

$$N(3.7377, 0.03)$$

donde:

3.7377 = log concentración letal (μ) = log 42% de FSA

0.03 = desviación estándar (σ)

```

30
JPR#1
12"
LOAD CAMARON
LIST
100 REM <CAMARON>
110 REM
120 REM SIMULA MUERTE DE UN CAMARON SOMETIDO A DIVERSAS DOSIS DE PETRÓLEO DEL TIPO
    C
130 DIM D(46),P(46)
150 HOME DD = 1000
    REM DL=DOSIS LETAL *** S=SIGMA
    DL = 42 M = LOG (D) S = 0
180 T1$ = "DOSIS" T2$ = "X=LOG(D)" T3$ = "Z" T4$ = "P(2)"
190 PRINT T1$, HTAB 10 PRINT T2$, HTAB 20 PRINT T3$, HTAB 31 PRINT T4$ PRINT
200 I = 1
    FOR O = 10 TO 100 STEP 2
        Y = LOG (X)
        = INT (Y * DD + .5) / DD
260 Z = (Y - M) / S REM FONTEJE Z
270 ZI = INT (Z * DD + .5) / DD
272 GOSUB 1000
273 XI = INT (X * DD + .5) / DD
280 HTAB 20 PRINT O, HTAB 10 PRINT YI, HTAB 20 PRINT ZI, HTAB 31 PRINT P
285 D(O) = Y P(O) = P I = I + 1
290 NEXT O
300 D$ = CHR$(4) F$ = "SIM-1"
310 PRINT D$;"OPEN".F$
320 PRINT D$;"DELETE".F$
330 PRINT D$;"OPEN".F$
340 PRINT D$;"WRITE".F$
350 FOR I = 1 TO 46
360 PRINT D(I) PRINT P(I) NEXT I
370 PRINT D$;"CLOSE".F$
999 END
1000 REM DIST NORMAL
1120 R = 2316419 B1 = 31938153 B2 = - 356563782 B3 = 1 78147797 B4 = - 1 82125
    5978 B5 = 1 338227429
1130 PI = 3 141592653589793 (X) = 10000
1140 K = 1 / SQR (2 * PI)
1150 DEF FN A(X) = K * EXP (- X * X / 2)
1160 DEF FN B(T) = B1 * T + B2 * T * T + B3 * T * T * T + B4 * T * T * T * T + B5 *
    T * T * T * T * T
1180 X = 2
1190 IF X < 0 THEN 1250
1200 T = 1 / (1 + P * X)
1210 Q = FN A(X) * FN B(T)
1220 GOSUB 1310
1230 P = 1 - Q
1240 GOTO 1320
1250 X = - X
1260 T = 1 / (1 + R * X)
1270 Q = FN A(X) * FN B(T)
1280 GOSUB 1310
1290 P = Q
1310 Q = INT (DD * Q + .5) / DD
1320 RETURN

```

IPIN	X=LOG(D)	Z	F(Z)
10	2 393	-4 784	0
12	2 4849	-4 1759	0
14	2 6791	-3 667	1E-04
16	2 7726	-3 2169	6E-04
18	2 8904	-2 8243	2 4E-07
20	2 9957	-2 4731	6 7E-03
22	3 091	-2 1544	0156
24	3 1781	-1 8654	0311
26	3 2581	-1 5988	055
28	3 3322	-1 3516	0883
30	3 4012	-1 1218	131
32	3 4657	- 9064	1823
34	3 5264	- 7044	2406
36	3 5835	- 5138	3037
38	3 6376	- 3356	3693
40	3 6889	- 1626	4354
42	3 7377	0	5
44	3 7842	1551	5616
46	3 8286	3032	6192
48	3 8717	4451	6719
50	3 912	5812	7194
52	3 9517	7119	7617
54	3 989	8377	7989
56	4 0254	9589	8312
58	4 0604	1 0759	859
60	4 0943	1 1889	8828
62	4 1271	1 2982	9029
64	4 1589	1 404	9198
66	4 1897	1 5066	934
68	4 2195	1 6061	9459
70	4 2485	1 7028	9557
72	4 2767	1 7967	9638
74	4 3041	1 888	9705
76	4 3307	1 9769	976
78	4 3567	2 0635	9805
80	4 382	2 1479	9841
82	4 4067	2 2302	9871
84	4 4308	2 3105	9896
86	4 4543	2 3889	9916
88	4 4772	2 4656	9932
90	4 4998	2 5405	9945
92	4 5218	2 6137	9955
94	4 5433	2 6854	9964
96	4 5643	2 7556	9971
98	4 585	2 8247	9976
100	4 6052	2 8917	9981

Estos datos se guardaron en un archivo, el cual posteriormente se usó para verificar el método de análisis.

Si se tiene una distribución normal

$$N(\mu, \sigma)$$

es sabido que se puede pasar a la distribución

$$N(0,1) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-t^2/2} dt$$

mediante el cambio de variable

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

Como se puede observar la relación entre z y x es lineal, de modo que si se conociera el z que corresponde a cada x experimental, se podría ajustar esta recta y obtener los valores de μ y σ .

Cuando se termina de hacer las mediciones, no se conoce μ ni σ , de modo que no se puede calcular z . Pero en el primer programa de simulación sí se conoce. Esto permite calcular z y por lo tanto con esta información, se pueden obtener las probabilidades de muerte, ya que se supone conocida la distribución.

Si se parte de las probabilidades de muerte para calcular el z correspondiente se presenta un problema cuando las probabilidades tienen valor de cero y 100%. Efectivamente $F(z) = 0$ y $F(z) = 100$ solamente en los límites $z = -\infty$ y $z = \infty$. Por esta razón los puntos que corresponden a probabilidades de muerte cero y 100% no se pueden incluir en el análisis.

En el programa CAM-1 se simuló la exposición de 20 camarones a cada concentración a partir de la probabilidad teórica de muerte se calcularon las probabilidades experimentales respectivas en base a una distribución binomial o sea "intentos bernoullianos", dado que las respuestas de los organismos son del tipo "todo o nada".

El valor de la probabilidad de muerte experimental (z) se graficó vs. el \ln de la concentración de FSA. Estos datos se ajustaron a una recta la cual proporcionó los valores de μ y σ , mismos que se cotejaron con los valores teóricos conservados en el archivo para verificar la validez del método de análisis.

La desviación estándar de la distribución normal de la mortalidad se calcula a partir del inverso de la pendiente de la recta, su función exponencial permite determinar el intervalo de confianza para el 95% de los casos de la siguiente manera:

$$\mu \pm 2\sigma$$

```

JPR#1
J?"
JLOAD CAM-1
JLIST
100 REM <CAM-1> SIMULA DATOS EXPERIMENTALES REALES
110 GOSUB 4000 REM INICIALIZA Y LEE PROBABILIDADES TEORICAS
120 REM ESTOS DATOS ESTAN
130 REM AHORA EN LOS VECTORES
REM X(I) Y Y(I) DIM(46)
REM NOW WE GO FROM PROBABILITIES TO ACTUAL NUMBER OF DEATHS, BY SIMULATING A BINOMIAL DISTRIBUTION
152 GOSUB 6000
154 REM AHORA LOS N(I) SON EN CADA INTERVALO LOS NUMEROS DE OBITOS
156 FOR I = 1 TO 46 PRINT N(I) NEXT
157 FOR I = 1 TO 20 Y(I) = N(I) / 20 NEXT
160 GOSUB 3000 REM SUBROUTINA INVERSE NORMAL
170 HOME PRINT "LOS DATOS A LOS CUALES VAMOS A AJUSTAR UNA RECTA SON X(I) Y Y(I)"
180 PRINT "INVERSE" PRINT "OBSERVA CUIDADOSAMENTE SI HAY ALGUN Z(I) = -100" NORMAL PRINT
190 HTAB 5 PRINT "X(I)"; HTAB 17 PRINT "Z(I)" PRINT
200 POKE 34.9 PRINT
210 SPEED= 255 FOR I = 1 TO NE PRINT X(I), Y(I) NEXT
220 SPEED= 255 TEXT HOME
230 REM
240 REM AHORA EL VECTOR X(I) CONTIENE
0 REM LOS LOGARITMOS DE LAS DOSIS
0 REM Y Y(I) CONTIENE LAS
270 REM PROBABILIDADES DE MUERTE
280 GOSUB 2000 REM AJUSTA RECTA
290 PRINT PRINT "QUIERES HACER OTRO AJUSTE (S/N) ?"; GET G$ IF G$ = "S" THEN 280
300 END

2000 REM AJUSTE RECTA
2010 HOME PRINT "DISPONGO DE ".NE. " DATOS" PRINT "DIME DESDE DONDE A DONDE" PRINT "AJUSTO LA RECTA" PRINT
2020 J = 0 K = 0 L = 0 M = 0 R2 = 0
2030 INPUT "COMIENZO, FIN ?"; H1, H2
2040 FOR I = H1 TO H2
50 X = X(I); Y = Y(I)
60 J = J + X K = K + Y L = L + X * X M = M + Y * Y R2 = R2 + X * Y
2070 NEXT I
2080 N = H2 + 1 - H1
2090 B = (N * R2 - K * J) / (N * L - J ^ 2)
2100 A = (K - B * J) / N
2110 PRINT
2120 PRINT "F(X) = ".A. " + ".B." * X"
2130 J = B * (R2 - J * K / N)
2140 M = M - K ^ 2 / N
2150 K = M - J
2160 R2 = J / M
2170 PRINT "R^2 = ".R2
PRINT "R0 = "; SQR (R2)
PRINT "ERROR = "; SQR (ABS (K / (N - 2)))
PRINT "PRINT N: " PUNTOS"
0 = - A / B
2207 00 = EXP (00)
2210 INVERSE PRINT "M = ".00
2220 PRINT "SIGMA=" .1 / B NORMAL
2230 RETURN

```

```

3000 REM SBR INV NORMAL.
3010 C0 = 2.515517 C1 = -.047372 C2 = .014728 D1 = 1.432788 D2 = 1.89289 C3 = .001708
3020 DEF FN ACT) = C0 + C1 * T + C2 * T * T
3030 DEF FN BCT) = 1 + D1 * T + D2 * T * T + D3 * T * T * T
3040 DD = 100
OR I = 1 TO NE
= Y(I)
3070 IF P = 0 THEN Y(I) = -100 GOTO 3200
3080 Q = 1 - P
3090 IF Q > .5 THEN 3140
3100 T = SQR (100 * (1 / (Q + 0.001)))
3110 X = T - (FN ACT) / FN BCT)
3120 GOSUB 3180 REM PRINT RESULT
3130 GOTO 3200
3140 Q1 = (1 - Q) * (1 - Q) Q1 = 1 / Q1 T = SQR (100 * (Q1))
3150 X = (FN ACT) / FN BCT) - T
3160 GOSUB 3180 REM PRINT RESULT
3170 GOTO 3200
3180 X = INT (DD * X + 5) / DD
(I) = X: RETURN
NEXT I
3210 RETURN

4000 TEXT HOME PRINT "ESTOY LEYENDO LAS" PRINT "PROBABILIDADES TEORICAS" PRINT
4010 DS = CHR$(13) + CHR$(4) FS = "SIM-1"
4020 DIM X(46), Y(46), B(21), P(21)
4022 DIM QD(22), XX(22)
4030 NE = 46 REM NUMERO DE PUNTOS EXPERIMENTALES
4040 PRINT DS; "OPEN"; FS PRINT DS; "READ"; FS
4050 FOR I = 1 TO NE INPUT X(I), Y(I) NEXT
4060 PRINT DS; "CLOSE"; FS
4061 HOME HTAB 10 PRINT "X"; HTAB 16 PRINT "PROB"
4062 POKE 34,2
4070 FOR I = 1 TO NE HTAB 5 PRINT X(I); HTAB 19 PRINT Y(I) NEXT
4075 TEXT
4080 RETURN
6000 REM
6005 DIM N(46)
6010 REM SIMULATION OF ACTUAL NUMBER OF DEATHS WE ASSUME THAT WE HAVE 20 CAMARONES PER BATCH
REM BCT) SON LOS COEFICIENTES BINOMIALES
FOR I = 0 TO 20 READ X:BCT) = X NEXT
6040 DATA 1,20,190,1140,4845,15504,38760,77520,125970,167960,184756
6050 DATA 167960,125970,77520,38760,15504,4845,1140,190,20,1

```

```
470 HOME
080 FOR I = 1 TO 46
6082 P = Y(I)
6100 FOR K = 0 TO 20
6110 P(K) = B(K) * (P ** K) + ((1 - P) ** (20 - K))
6120 NEXT K
6130 Q0(1) = B
6140 FOR K = 0 TO 20
6150 XX(K) = Q0(K + 1) + P(K)
2) = XX(K)
6220 R = RND (1)
6230 PRINT "R=";R;
6250 FOR K = 0 TO 20
6260 IF R < XX(K) THEN 6290
6270 NEXT K
6280 GOTO 6300
6290 N(I) = K
6291 HTAB 15: PRINT I; HTAB 20: PRINT N(I)
6295 NEXT I
6300 RETURN
```

DRIW

ESTOY LEYENDO LAS

PROBABILIDADES TEORICAS

X PROB MUESTR

2	30258509	0
2	48490855	0
2	67905733	1E-04
2	77258872	6E-04
2	89837176	2 4E-03
7	6 7E-03	
6	0156	
3	17805383	0311
3	25809654	035
3	33220451	0803
3	40119719	111
3	4657359	1823
3	52636053	2408
3	58351894	3037
758616	3693	
887945	4354	
3	73768962	5
3	78418963	5616
3	8286414	6192
3	87120101	6719
3	91202301	7194
7	95124372	7617
3	98998405	7984
4	02535169	8312
4	066044301	859
4	09434456	8828
4	12713439	9029
4	15898708	9198
4	18965474	934
4	21950771	9459
4	24849524	9557
4	27666612	9678
6509	9705	
3334	976	
4	35620883	9805
4	38202664	9841
4	40671925	9871
4	4308168	9896
4	4543473	9916
4	47733681	9932
4	49900987	9945
4	52178858	9955
4	54329478	9964
4	56434019	9971
4	58496748	9976
4	6051702	9981

LOS DATOS A LOS QUE SE VANOS
 A AJUSTAR UNA RECTA SON X(1), Z(1)
 PREFERRA ENTENDIENDO SI HAY
 ALGUN Z(1) = -100

X(1)	Z(1)
2 10258509	-100
2 48490685	-100
2 67905773	-100
7258872	-100
9037178	-100
2 99571221	-100
3 09104246	-1 65
3 17805382	-1 65
3 25809654	-1 28
3 33220451	-1 04
3 40119779	-1 47
3 4657359	- 82
3 52636053	- 28
3 58351894	- 25
3 63258616	- 25
3 68287945	- 19
3 73766962	0
3 78418967	92
3 8286414	25
3 87120101	1
3 91202301	58
3 95124372	21
3 98898405	84
4 02535169	98
4 06044701	1 08
4 09434456	1 19
4 12713439	1 7
4 15888308	1 4
4 18985474	1 51
4 21950731	1 61
4 24849324	1 7
4 27666612	1 8
4 30406509	1 89
4 33073334	1 98
4 35670883	2 06
4 38202664	2 15
4 40671925	2 23
4 4308168	2 31
4 4543473	2 39
4 47733681	2 47
4 49909467	2 54
4 52178858	2 61
4 54329478	2 69
4 56434819	2 76
4 58496748	2 82
4 6051702	2 89

R= 973176996	1	0
R= 103117626	2	0
R= 0177148333	3	0
R= 779343355	4	0
R= 551834438	5	0
R= 617419111	6	0
R= 960296981	7	1
R= 547150991	8	1
R= 802192734	9	2
R= 814107273	10	3
R= 131137465	11	1
R= 80924873	12	5
R= 246447204	13	7
R= 041536558	14	8
R= 591965711	15	8
R= 26800113	16	7
R= 419217095	17	10
R= 878831482	18	14
R= 769373372	19	12
R= 123235316	20	11
R= 200111176	21	13
R= 836328912	22	17
R= 115622079	23	14
R= 815110127	24	12
R= 573253785	25	18
R= 889939655	26	19
R= 427020051	27	18
R= 0226942065	28	16
R= 123590262	29	17
R= 98134051	30	20
R= 128457588	31	18
R= 981568261	32	20
R= 706743818	33	20
R= 984803409	34	20
R= 794972044	35	20
R= 289463256	36	20
R= 71437936	37	20
R= 751920717	38	20
R= 0910165628	39	19
R= 855416984	40	20
R= 7500441	41	20
R= 0680029717	42	19
R= 246983038	43	20
R= 82843743	44	20
R= 891284263	45	20
R= 760003366	46	20

QUIERES HACER OTRO AJUSTE USANDO DISPONGO DE 46 DATOS
DIME DESDE DONDE A DONDE
AJUSTO LA RECTA

COMIENZO, FIN 215.30

$$F(X) = -12.4993913 + 3.34156931 \cdot X$$

$$R^2 = 951379347$$

$$R0 = 925386768$$

$$\text{ERROR} = 143570042$$

16 PUNTOS

$$M = 42.1222127$$

$$\text{SIGMA} = 299260589$$

Cuando el programa se aplicó a los resultados obtenidos en este trabajo, se presentó el problema expuesto (vide supra) ya que la concentración del 89.56% de FSA fue letal para todos los camarones expuestos.

Si la probabilidad de muerte para esta dilución del contaminante se estimara de acuerdo a la forma clásica:

$$P = \frac{\text{Número de éxitos}}{\text{Número de intentos}}$$

donde número de éxitos es igual a número de animales muertos y número de intentos es el número de organismos expuestos.

Este dato no se podría incluir en el análisis. Sin embargo, si esta probabilidad se calcula a partir de la forma bayesiana (Hoel, et al., 1971):

$$P = \frac{E + 1}{n + 2}$$

donde E es el número de éxitos y n es el número de intentos.

El resultado para esta concentración de FSA sí se puede incluir en el programa computacional, debido a que en la estimación bayesiana la probabilidad de muerte no es 1.0, como en el caso clásico, sino menor.

En los casos donde E y n son grandes, las estimaciones dadas por ambos métodos son muy parecidas pero para muestras pequeñas, como las de esta investigación, la diferencia puede ser importante.

Por lo tanto, la estimación bayesiana permite introducir en el análisis

probit concentraciones de contaminante que presenten 100% de mortalidad, aspecto no detectado por Finney (1978).

Debido a lo anterior, el programa se aplicó a las probabilidades de muerte experimentales, determinadas por el método bayesiano encontradas en este trabajo.

DPR01

DIME DONDE

AJUSTAR LA RECTA

ESTOY LEYENDO LOS DATOS

X	PROB. MUERTE
3 88399226	230769231
4 83441762	25
4 26464977	772727273
4 49498879	95

LOS DATOS A LOS CUALES VAMOS

A AJUSTAR UNA RECTA SON X(1), Z(1)

X(1)	Z(1)
3 88399226	- 74
4 83441762	- 67
4 26464977	75
4 49498879	1 65

DISPONGO DE 4 DATOS

DIME DESDE DONDE A DONDE

AJUSTO LA RECTA

COMIENZO. FIN 21.4

 $F(x) = -15.2298256 + 3.72973974 \cdot x$ R² = 912914853

RO = 95598894

ERROR = 41682163

4 PUNTOS

M = 59 3318984

SIGMA = 268115222

CHI² = 3 93482801

Para estudiar la variabilidad estadística que se puede esperar en este tipo de pruebas, se diseñaron los programas "Aztecus 0-4" para simular los resultados que se obtendrían en experimentos que utilizaran cuatro concentraciones, como la presente investigación.

Con estos programas se simula realmente el número de camarones que en cada caso habrían muerto. Para ello se considera la muerte de los camarones como un experimento binomial, en que la probabilidad es la obtenida a partir de los datos experimentales.

El programa "Aztecus 4" se corrió 30 veces y luego se ajustaron las mejores rectas a los puntos obtenidos en cada simulación. Cada una de ellas dio un valor de μ y σ . Finalmente se calculó el promedio y la dispersión de estos datos.

En conclusión, se puede decir que el promedio para la concentración letal es 59.65% de FSA con una dispersión de 2.67 o sea 4.5%.

En lo referente a la desviación (σ), su valor es 0.298 con una dispersión de 0.067 o sea un 22.5%. A partir de esto, se observa que el método permite determinar la concentración letal con bastante precisión, pero su dispersión tiene una incerteza mayor.

NAME AZTECUS-0 DATE 10.26.82 TIME 1325 PAGE 01
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 1240

```

100 REM (AZTECUS-0)
110 REM
120 REM SIMULA MUERTE DE UN CAMARON SOMETIDO A DIVERSAS DOSIS DE PETROLEO DEL IXTOC
130 DIM D(10),P(16)
140 HOME DD = 1000
0 REM DL=DOSIS LETA *** S=SIGMA
0 DL = 59.33 M = (00) (0)
170 S = 268
180 T10 = "DOSIS" T20 = "X=LOG(D)" T30 = "Z" T40 = "PZ"
190 PRINT T10: ATAB 10 |PRINT T20: ATAB 20 PRINT T30: ATAB 30 PRINT T40 PRINT
200 I = 1
210 FOR D = 30 TO 120 STEP 10
220 X = D Y = (00) (X)
230 Y1 = INT (Y * DD + 5) / DD
240 Z = (Y - M) / S REM PUNTAJE Z
250 Z1 = INT (Z * DD + 5) / DD
260 GOSUB 1000
270 X1 = INT (X * DD + 5) / DD
280 ATAB 20 PRINT D: ATAB 10 PRINT Y1: ATAB 20 PRINT Z1: ATAB 30 PRINT P
290 D(I) = D P(I) = P I = I + 1
300 NEXT D
310 DS = CHR$(4) FS = "AZTECUS PROB"
320 PRINT DS: "OPEN": FS
330 PRINT DS: "DELETE": FS
340 PRINT DS: "OPEN": FS
350 PRINT DS: "WRITE": FS
360 FOR I = 1 TO 10
370 PRINT D(I) PRINT P(I) NEXT I
380 PRINT DS: "CLOSE": FS
390 PRINT PRINT "HEMOS GUARDADO LAS DOSIS REALES"
400 PRINT "Y LAS PROBABILIDADES, EN EL" PRINT "ARCHIVO": FS
410 END
    
```

```

1000 REM DIST NORMAL
1010 REM
1020 REM LA APROXIMACION POLINOMIAL QUE SE USA EN ESTA SUBROUTINA, FUE LEVANTADA
1030 REM DEL "HAND-BOOK OF MATHEMATICAL FUNCTIONS" DEL NATIONAL BUREAU OF STANDARDS
REM AUTORES ARRAMONITZ Y STEGUN
REM
1060 R = 2316419 P1 = 31978153 B2 = - 356563782 B3 = 1 781477937 B4 = - 1 821255978 B5 = 1 3702274429
1070 P1 = 3 141592653589793 DD = 10000
1080 K = 1 / SQR (2 * PI)
1090 DEF FN A(X) = K * EXP (- X * X / 2)
1100 DEF FN B(T) = B1 * T + B2 * T * T + B3 * T * T * T + B4 * T * T * T * T + B5 * T * T * T * T * T
1110 X = Z
1120 IF X < 0 THEN 1180
1130 T = 1 / (1 + R * X)
1140 Q = FN A(X) * FN B(T)
1150 GOSUB 1230
1160 P = 1 - Q
1170 GOTO 1240
1180 X = - X
1190 T = 1 / (1 + R * X)
1200 Q = FN A(X) * FN B(T)
1210 GOSUB 1230
1220 P = Q
1230 Q = INT (DD * Q + 5) / DD
1240 RETURN
    
```

1
 NAME AZTECUS-1 DATE 10/26/82 TIME 1330 PAGE 01
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 7000

```

100 REM <AZTECUS-1>
110 REM ESTE PROGRAMA LEE LAS DOSIS Y LAS PROBABILIDADES TEORICAS EN EL ARCHIVO
120 REM "AZTECUS PROB" Y LUEGO SIMULA DATOS EXPERIMENTALES
130 REM ESTOS DATOS EXPERIMENTALES LOS GUARDA EN EL ARCHIVO "AZTECUS DAT"
140 TEXT HOME PRINT "ESTOY LEYENDO LAS" PRINT "PROBABILIDADES TEORICAS" PRINT
150 D$ = CHR$(13) + CHR$(4) : F$ = "AZTECUS PROB"
160 DIM D(10), P(10)
170 NE = 10: REM NUMERO DE PUNTOS EXPERIMENTALES
180 PRINT D$: "OPEN": F$: PRINT D$: "READ": F$
190 FOR I = 1 TO NE: INPUT D(I), P(I): NEXT
200 PRINT D$: "CLOSE": F$
210 HOME HTAB 5: PRINT "DOSIS": HTAB 16: PRINT "NUMERO CADAVERES": PRINT
220 GOSUB 6000: REM SIMULA NUMERO DE CADAVERES
224 D$ = CHR$(4)
225 PRINT D$: "OPEN AZTECUS DAT"
230 PRINT D$: "APPEND AZTECUS DAT"
250 PRINT D$: "WRITE AZTECUS DAT"
255 FOR I = 1 TO 10
260 PRINT N(I): NEXT I
270 PRINT D$: "CLOSE AZTECUS DAT"
280 END
6000 REM
6010 DIM N(10), B(21), PP(21), QQ(22), XX(22)
6020 REM SIMULATION OF ACTUAL NUMBER OF DEATHS. WE ASSUME THAT WE HAVE 20 CARRABONES PER BATCH
6030 REM B(I) SON LOS COEFICIENTES BINOMIALES
6040 FOR I = 0 TO 20: READ X: B(I) = X: NEXT
6050 DATA 1, 20, 190, 1140, 4845, 15504, 38760, 77520, 125970, 167960, 184756
6060 DATA 167960, 125970, 77520, 38760, 15504, 4845, 1140, 190, 20, 1
6070 REM CALCULO NUMERO PROBABLE DE CADAVERES
6080 FOR I = 1 TO NE
90 P = P(I)
6100 FOR K = 0 TO 20
6110 PP(K) = B(K) * (P ^ K) * ((1 - P) ^ (20 - K))
6120 NEXT K
6130 QQ(1) = 0
6140 FOR K = 0 TO 20
6150 XX(K) = QQ(K + 1) + PP(K)
6160 QQ(K + 2) = XX(K)
6170 NEXT K
6180 R = RND(1)
6190 HTAB 6: PRINT D(I):
6200 FOR K = 0 TO 20
6210 IF R < XX(K) THEN 6240
6220 NEXT K
6230 GOTO 6270
6240 N(I) = K
22: PRINT N(I)
6250 HTAB 22: PRINT N(I)
6260 NEXT I
6270 RETURN

```

NAME AZTECUS-2 DATE 10/26/82 TIME 1340 PAGE 01
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 5000

```

100 REM (AZTECUS-2)
110 GOSUB 4000 REM INICIALIZA Y LEE DATOS EXPERIMENTALES
   REM LOS DATOS EXPERIMENTALES ESTAN
   REM AHORA EN LOS VECTORES
140 REM X(I) Y Y(I) DIM(40)
150 REM AHORA DEBEMOS PASAR DE LAS PROBABILIDADES AL VALOR DE Z
160 GOSUB 3000 REM SUBROUTINA INVERSA NORMAL
170 PRINT "LOS DATOS A LOS CUALES DAMOS" PRINT "A HASTAR UNA LETRA CON X(I),Z(I)"
190 HTAB 5 PRINT "X(I)"; HTAB 17 PRINT "Z(I)"; PRINT
210 FOR I = 1 TO NE PRINT X(I),Y(I); NEXT
230 REM
240 REM AHORA EL VECTOR X(I) CONTIENE
   REM LOS LOGARITMOS DE LAS DENS.
   REM Y Y(I) CONTIENE LAS
   REM PROBABILIDADES DE MUERTO
GOSUB 2000 REM AJUSTA RECTA
300 END

```

```

2000 REM AJUSTE RECTA
2020 J = 0 K = 0 L = 0 M = 0 R2 = 0
2030 H1 = 1 H2 = 10
   FOR I = H1 TO H2
X = X(I) Y = Y(I)
2060 J = J + X K = K + X * Y L = L + X * X M = M + Y * Y
2070 NEXT I
2080 N = H2 + 1 - H1
2090 B = (N * R2 - K * L) / (N * L - J * J)
2100 A = (K - B * J) / N
2110 PRINT
PRINT "F(X) = "A" + "B" * "X"
= B * (R2 - J * J / N)
2140 M = N - K * J / L
2150 K = M - J
2160 R2 = J / M
2170 PRINT "R2 = "R2
2180 PRINT "M = "M; "SGR (R2)
2190 PRINT "ERROR = "SGR (RES (K / (N - 2)))
INT PRINT N;" PUNTOS"
2200 PRINT PRINT N;" PUNTOS"
= - A / B
= EXP (QQ)
2210 INVERSE PRINT "M = "M
2220 PRINT "SIGMA="1 / B; "NORMAL"
2230 RETURN

```

```

3000 REM SBR INV NORMAL
3010 C0 = 2.515517 C1 = .802853 C2 = .010328 D1 = 1.432788 D2 = .189269 D3 = .001308
3020 DEF FN A(T) = C0 + C1 * T + C2 * T * T
3030 DEF FN B(T) = 1 + D1 * T + D2 * T * T + D3 * T * T * T
3040 DD = 100
3050 FOR I = 1 TO NE
3060 P = Y(I)
3070 IF P = 0 THEN Y(I) = -100 GOTO 3140
3080 Q = 1 - P
3090 IF Q > .5 THEN 3140
3100 T = SQR (LOG (1 / (Q * DD)))
3110 X = T - (FN A(T) / FN B(T))
3120 GOSUB 3100 REM PRINT RESULT

```

NAME AZTECUS-2 DATE 10/26/82 TIME 1340 PAGE 02
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 5000

```

3130 GOTO 3200
3140 Q1 = (1 - Q) * (1 - Q) Q1 = 1 / Q1 T = SQRT ( LOG (Q1) )
3150 X = ( FN ACT) / FN BCT) - T
3160 GOSUB 3180 REM PRINT RESULT
3170 GOTO 3200
3180 X = INT (DD * X + 5) / 10
      Y(I) = X: RETURN
      NEXT I
3210 RETURN

4000 TEXT HOME PRINT "DIME DONDE ENFIEZO A VER" PRINT "EL ARCHIVO AZTECUS DAT" INPUT #
4010 DS = CHR$(4) FS = "AZTECUS DAT"
      A DIM D(10),N(10)
      @ NE = 10: REM NUMERO DE PUNTOS EXPERIMENTALES
4040 PRINT DS: "OPEN AZTECUS DAT"
4042 PRINT DS: "POSITION AZTECUS DAT,R,P,W
4044 PRINT DS: "READ AZTECUS DAT"
4050 FOR I = 1 TO NE INPUT N(I): NEXT
PRINT DS: "CLOSE":FS
= 1
4080 FOR D = 30 TO 120 STEP 10 D(I) = D I = I + 1: NEXT
4090 HOME HTAB 5 PRINT "DOSIS": HTAB 16 PRINT "NUMERO DE MUERTOS" PRINT
4100 F0KE 24.2
4110 FOR I = 1 TO NE HTAB 5 PRINT D(I): HTAB 19 PRINT N(I): NEXT
4120 REM CALCULO DE LOG DOSIS + ESTIMACION DE LAS PROBABILIDADES
4130 FOR I = 1 TO NE X(I) = LOG (D(I)) NEXT
4140 FOR I = 1 TO NE
4150 Y(I) = (N(I) + 1) / (20 + 2) REM 20=NUMERO DE CAMARONES EN CADA CAMARA
4160 NEXT I
4170 TEXT
4190 FOR I = 1 TO NE
4200 PRINT X(I),Y(I) NEXT
4210 RETURN

```


NAME AZTECUS-3 DATE 10/26/82 TIME 1345 PAGE 01
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 63999

```

100 REM <AZTECUS-3>
110 REM ESTE PROGRAMA LEE LAS DOSIS Y LAS PROBABILIDADES TEORICAS EN EL ARCHIVO
120 REM "DATOS-RC" Y LUEGO SIMULA DATOS EXPERIMENTALES
130 REM ESTOS DATOS EXPERIMENTALES LOS GUARDA EN EL ARCHIVO "ROSA DAT"
140 TEXT HOME PRINT "ESTOY LEYENDO LAS" PRINT "PROBABILIDADES TEORICAS" PRINT
150 D$ = CHR$(13) + CHR$(4) F$ = "DATOS-RC"
160 DIM D(10),P(10)
170 NF = 4 REM NUMERO DE PUNTOS EXPERIMENTALES
180 PRINT D$;"OPEN";F$ PRINT D$;"READ";F$
190 FOR I = 1 TO NF: INPUT D(I),P(I): NEXT
200 PRINT D$;"CLOSE";F$
210 HTAB 5 PRINT "DOSIS": HTAB 16 PRINT "NUMERO CADAVERES": PRINT
212 FOR I = 1 TO NF: PRINT D(I),P(I): NEXT
220 GOSUB 6000 REM SIMULA NUMERO DE CADAVERES
4 D$ = CHR$(4)
5 PRINT D$;"OPEN ROSA DAT"
230 PRINT D$;"APPEND ROSA DAT"
250 PRINT D$;"WRITE ROSA DAT"
255 FOR I = 1 TO 4
260 PRINT N(I) NEXT I
PRINT D$;"CLOSE ROSA DAT"
END
6000 REM
DIM N(10),B(21),PP(21),QQ(22),XX(22)
REM SIMULATION OF ACTUAL NUMBER OF DEATHS WE ASSUME THAT WE HAVE 20 CADAVERES PER BATCH
6030 REM B(I) SON LOS COEFICIENTES BINOMIALES
6040 FOR I = 0 TO 20: READ X: B(I) = X: NEXT
6050 DATA 1,20,190,1140,4845,15504,38760,77520,125970,167960,184756
6060 DATA 167960,125970,77520,38760,15504,4845,1140,190,20,1
0 REM CALCULO NUMERO PROBABLE DE CADAVERES
0 FOR I = 1 TO NF
6090 P = P(I)
R K = 0 TO 20
K) = B(K) * (P ^ K) * ((1 - P) ^ (20 - K))
6120 NEXT K
6130 QQ(1) = 0
6140 FOR K = 0 TO 20
6150 XX(K) = QQ(K + 1) + PP(K)
6160 QQ(K + 2) = XX(K)
6170 NEXT K
R = RND(1)
TAB 6: PRINT D(I);
0 FOR K = 0 TO 20
6210 IF R < XX(K) THEN 6240
6220 NEXT K
6230 GOTO 6270
6240 N(I) = K
6250 HTAB 22: PRINT N(I)
6260 NEXT I
6270 RETURN

```

NAME AZTECUS-4 DATE 10/26/82 TIME 1350 PAGE 01
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 8399

79

```

100 REM AZTECUS-4
110 GOSUB 4000 REM INICIALIZA Y LEE DATOS EXPERIMENTALES
120 REM LOS DATOS EXPERIMENTALES ESTAN
REM AHORA EN LOS VECTORES
REM X(I) Y Y(I) DIM(46)
50 REM AHORA DEBEMOS PRUEBA DE LAS PROBABILIDADES EL VALOR DE 2
60 GOSUB 3000 REM SUBROUTINA INVERSA NORMAL
170 PRINT "LOS DATOS A LOS CUADROS SIGUEN" PRINT "AJUSTAR CON Ajuste RECTA"
190 HTAB 5 PRINT "X(I)" HTAB 17 PRINT "Y(I)" PRINT
210 FOR I = 1 TO NE PRINT X(I) Y(I) NEXT
230 REM
240 REM AHORA EL VECTOR X(I) CONTIENE
250 REM LOS LOGARITMOS DE LAS DOSIS
260 REM Y Y(I) CONTIENE LAS
REM PROBABILIDADES DE MUERTE
GOSUB 2000: REM AJUSTA RECTA
300 END

```

```

2000 REM AJUSTE RECTA
2020 J = 0: K = 0: L = 0: M = 0: R2 = 0
2030 H1 = 1: H2 = 4
2040 FOR I = H1 TO H2
2050 X = X(I): Y = Y(I)
2060 J = J + X: K = K + Y: L = L + X * X: M = M + Y * Y: R2 = R2 + X * Y
2070 NEXT I
2080 N = H2 + 1 - H1
2090 B = (N * R2 - K * J) / (N * L - J * J)
2100 A = (K - B * J) / N
2110 PRINT
2120 PRINT "F(X) = ".A." + ".B."*X
2130 J = B * (R2 - J * K / N)
2140 M = M - K ^ 2 / N
2150 K = M - J
2160 R2 = J / M
2170 PRINT "R^2 = ".R2
2180 PRINT "R1 = ".SOR(R2)
2190 PRINT "ERROR = ".SOR(LARS(K) / (N - 2))
2200 PRINT "PRINT N:" PUNTOS"

```

QQ = -A / B

QQ = EXP(QQ)

```

2210 INVERSE PRINT "M = ".QQ
2220 PRINT "SIGMA = 1 / B NORMAL
2230 RETURN

```

```

3000 REM SBR INV NORMAL
3010 C0 = 2.515517: C1 = .882853: C2 = .010728: D1 = 1.432788: D2 = .189269: D3 = .001098
30 DEF FN A(T) = C0 + C1 * T + C2 * T ^ 3
30 DEF FN B(T) = 1 + D1 * T + D2 * T ^ 2 + D3 * T ^ 3
3040 DD = 100
3050 FOR I = 1 TO NE
3060 P = Y(I)
3070 IF P = 0 THEN Y(I) = -100: GOTO 3090
3080 Q = 1 - P
IF Q > .5 THEN 3140
T = SQR(-LOG(1 / (Q * QQ)))
3110 X = T - (FN A(T) / FN B(T))
3120 GOSUB 3100: REM PRINT RESULT

```

NAME AZTECUS-4 DATE 10/26/82 TIME 1350 PAGE 02
 STARTING LINE 100 ENDING LINE 63999

GOTO 3200

3140 O1 = (1 - O) * (1 - O) O1 = 1 / O1 T = SQRT (LOG (O1))

3150 X = (FN A(T) / FN B(T)) - 1

3160 GOSUB 3180: REM PRINT RESULT

3170 GOTO 3200

3180 X = INT (OD * X + 50) / 100

Y (I) = X: RETURN

NEXT I

RETURN

4000 TEXT HOME PRINT "DIME DONDE EMPIEZA LA PUNTA" PRINT "EL ARCHIVO AZTECUS DAT . . . INPUT R

4010 D0 = CHR\$ (4) F0 = "ROSA DAT"

4020 DIM D(10) N(10)

4030 NE = 4: REM NUMERO DE PUNTS EXPERIMENTALES

4040 PRINT D0: "OPEN": F0

PRINT D0: "POSITION ROSA DAT. P": R

PRINT D0: "READ": F0

4050 FOR I = 1 TO NE INPUT N(I) NEXT

4060 PRINT D0: "CLOSE": F0

4070 O(1) = 44 88: D(2) = 56 51: D(3) = 71 14: D(4) = 89 50

4090 HOME: HTAB 5: PRINT "DOSIS": HTAB 10: PRINT "NUMERO DE MUESTRAS": PRINT

4100 POKE 34,2

4110 FOR I = 1 TO NE: HTAB 5: PRINT D(I): HTAB 10: PRINT N(I): NEXT

4120 REM CALCULO DE LOG DOSIS Y ESTIMACION DE LAS PROBABILIDADES

4130 FOR I = 1 TO NE X(I) = LOG (D(I)) NEXT

40 FOR I = 1 TO NE

50 Y(I) = (N(I) + 1) / (20 + 2): REM 20=NUMERO DE CAMPAÑAS EN CADA CARRERA

4150 NEXT I

4170 TEXT

4190 FOR I = 1 TO NE

4200 PRINT X(I), Y(I): NEXT

4210 RETURN